



**Universidad Autónoma del
Estado de Hidalgo**



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

**Síntesis y aplicación de amino adsorbentes en la
determinación de Al(III), Pb(II), y Cu(II) en residuos
de disparo de arma de fuego mediante la
combinación de extracción en fase sólida dispersiva
y electroforesis capilar**

Tesis para obtener el grado de:

Licenciado en Química

Presenta:

**Hernán Hernández González
Directores**

Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega

Dra. Gabriela Islas Guerrero



Mineral de la Reforma, Hgo., a 4 de junio de 2020

Número de control: ICBI-D/467/2020
Asunto: Autorización de impresión.

**M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
 DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH**

Por este medio le comunico que el Jurado asignado al Pasante de la Licenciatura en Química Hernán Hernández González, quien presenta el trabajo de titulación "Síntesis y aplicación de amino adsorbentes en la determinación de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en residuos de disparo de arma de fuego mediante la combinación de extracción en fase sólida dispersiva y electroforesis capilar" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE: Dr. José Antonio Rodríguez Ávila
 PRIMER VOCAL: Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega
 SECRETARIO: Dra. Irma Pérez Silva
 SUPLENTE: Dra. Gabriela Islas Guerrero



Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
 Director del ICBI



OAAS/SEPC



Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia Carboneras,
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
 Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109
 direccion_icbi@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Agradecimientos

A Aquel por quien todo fue posible, a Dios.

Le doy las gracias por todo lo que ha hecho por mí y por la familia, Él me permitió entrar a la universidad y también me ayudó a no rendirme y terminarla. Al día de hoy entiendo la razón por la cual me permitió ingresar y es que las vivencias con los compañeros, los conocimientos adquiridos solo la licenciatura puede ofrecer. Te agradezco mucho mi Señor y me gustaría algún día poner mis conocimientos a tu servicio.

A mis padres y hermana que son una prueba muy grande de que Dios me ama demasiado. Estoy profundamente agradecido con ellos, soportaron todos mis enojos y desvelos (ustedes dispensaran todo el ruido que hacía en la madrugada cuando se me caían las cosas o el ruido del "tecleo" de la computadora, pero no recibía algún reclamo de ello, que buenos son conmigo). Puedo decir que hemos terminado, siempre estuvieron a mi lado apoyándome y hasta alguna cosa de química ustedes aprendieron. Son un pilar muy importante en mi vida.

También agradezco a los familiares que estuvieron al pendiente de mi educación en todos los niveles, cuando me encontraban me preguntaban qué carrera escogí y en que semestre estaba y siempre me alentaban a continuar, gracias a todos.

Aún recuerdo cuando en metodología de la investigación entregábamos avances me preguntaban cada parcial ¿Quién es tu asesor?

Al Dr. Israel, la persona con más paciencia que he conocido, en usted recae mucho que llegamos a la meta, me motivaba demasiado utilizar el instrumento legendario y mítico de electroforesis capilar, "el cual solo le obedece a usted y a quien usted se lo conceda según las malas lenguas". Gracias igual por ayudarme en mi formación de laboratorio, aquella "mini estancia" de vacaciones en el laboratorio 2 en tercer semestre fueron de mucha ayuda. Le agradezco también a su familia, a su padre y esposa principalmente, que ayudaron demasiado para la realización de este proyecto.

Estoy también agradecido con los amigos y compañeros, Gabriela y Andrés que estuvieron conmigo desde el primer semestre, los del laboratorio 2 que conocí al final de la licenciatura, la Dra. Irma, el Dr. Giann, la Dra. Páez y el Mtro. Francisco que estuvieron al pendiente de mí y que inclusive se acercaban a preguntar cómo iba con el proyecto, fueron muy buenos conmigo.

También recuerdo a los amigos que ya tenía antes de comenzar en la carrera, gracias por estar para mí cuando necesitaba de ustedes.

En fin, gracias a Dios por el don de la vida.

Índice general

1.	Antecedentes	1
1.1	Arma de fuego	2
1.2	Componentes de la munición	2
1.3	Identificación de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en residuos de disparo de arma de fuego	6
1.3.1.	Pruebas cualitativas	6
1.3.1.1	Prueba de parafina	6
1.3.1.2	Prueba de Harrison-Gilroy	7
1.3.1.3	Prueba de Griess	8
1.3.2	Técnicas cuantitativas	9
1.3.2.1	Técnicas Cromatográficas	9
•	Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)	9
•	Cromatografía de gases (GC)	9
1.3.2.2	Técnicas no cromatográficas	11
•	Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)	11
•	Espectroscopia de absorción atómica (AAS)	11
•	Electroquímicas (Voltamperometría)	12
•	Electroforesis capilar (CE)	12
•	Cromatografía Capilar Electrocínética Micelar (MEKC)	13
•	Electroforesis Capilar de Zona (CZE)	14
1.3.3.	Técnicas de pre-tratamiento	15
1.3.3.1.	Extracción en fase sólida (Solid Phase Extraction, SPE)	15
1.3.3.2.	Extracción en fase sólida magnética (Magnetic Solid Phase Extraction, MSPE)	17
1.3.3.3.	Extracción en fase sólida dispersiva (Dispersive Solid Phase Extraction, DSPE)	18
1.4.	Isoterma de adsorción (Análisis Scatchard)	19
2	Objetivos	20
2.1	Objetivo General	20
2.2	Objetivos Específicos	20
3	Metodología experimental	21
3.1	Materiales y reactivos	21
3.2.	Equipos	21
3.3.	Condiciones de análisis para el sistema CE-UV	22
3.4.	Síntesis del sólido constituido por sílice-NH ₂	22
3.5	Optimización del método por DSPE	23
3.6	Aplicación del método	23
4	Resultados y discusiones	25

	4.1	Evaluación de las condiciones de separación	25
	4.1.1.	Evaluación del sistema complejométrico	25
	4.1.2.	Evaluación de estándar interno (EI)	26
	4.1.3	Voltaje de separación	28
	4.2	Síntesis del amino adsorbente	30
	4.2.1.	Efecto de la composición y del pH del sólido sintetizado	30
		• Composición	30
		• pH	34
	4.3	Caracterización del adsorbente	32
		• Infrarrojo	32
		• Microscopía electrónica de barrido	33
		• Análisis Termogravimétrico	34
		• Isoterma de adsorción	35
	4.4	Evaluación de las condiciones de extracción por DSPE	36
	4.4.1.	Cantidad de Adsorbente	36
	4.4.2.	Tiempo de contacto	37
	4.4.3.	Volumen de muestra	38
	4.4.4	Elución de muestra	39
	4.4.5.	Parámetros analíticos	40
	4.5	Aplicación del método	41
5		Conclusiones	45
6		Bibliografía	47

Índice de figuras

Figura 1.	Países con mayor número de muertes por arma de fuego	1
Figura 2.	Partes de un arma de fuego (Colmenero, 2015).	2
Figura 3.	Componentes de la munición.	3
Figura 4.	Zona o huellas de residuos de disparo de arma de fuego.	5
Figura 5.	Reacción química de la prueba de parafina. (A) Difenilamina, (B) Nitratos, (C) N-N'-Difenilbenzidina.	6
Figura 6.	Esquema de reacción de la prueba de Harrison-Gilroy.	7
Figura 7.	Esquema de reacción en la obtención del compuesto azoico.	8
Figura 8.	Esquema de derivatización.	10
Figura 9.	Movimiento electroforético de analitos catiónicos, neutros y aniónicos.	14
Figura 10.	Descripción del proceso SPE.	16
Figura 11.	Descripción del proceso MSPE.	17
Figura 12.	Descripción del proceso DSPE.	18
Figura 13.	Esquema de síntesis del sólido adsorbente (sílice-NH ₂).	23
Figura 14.	Esquema del proceso DSPE con la muestra real.	24
Figura 15.	Esquema de complejación.	25
Figura 16.	Electroferogramas correspondientes a la evaluación de cantidad del complejante. a) 2.5 mM b) 5.0 mM c) 10.0 mM d) 15.0 mM e) 20.0 mM y f) 40.0 mM, con los iones Al(III), Pb(II) y Cu(II) a una concentración de 5.0 mgL ⁻¹ . Voltaje de separación 16.0 kV, λ=215 nm y pH=9.0.	26
Figura 17.	Evaluación del estándar interno con los iones Al(III), Pb(II) y Cu(II) a una concentración de 5.0 mgL ⁻¹ , y los estándares a una concentración 5.0 mgL ⁻¹ Analizados a 16.0 kV, λ=215 nm y un pH=9.0.	28
Figura 18.	Evaluación del voltaje de separación de Al(III), Pb(II) y Cu(II); 5.0 mgL ⁻¹ , estándar interno; 500.0 µgL ⁻¹	29
Figura 19.	Espectros de infrarrojo correspondiente al entrecruzante (TMOS), monómero funcional (APTMS) y sólido funcionalizado (TMOS-APTMS).	33
Figura 20.	Microfotografía en el análisis del sólido funcionalizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).	34
Figura 21.	Análisis termogravimétrico (TGA).	34
Figura 22.	Efecto de la cantidad de adsorbente en la retención analítica de Al(III), Pb(II) y Cu(II).	37
Figura 23.	Efecto del tiempo de contacto en la retención de Al(III), Pb(II) y Cu(II).	38
Figura 24.	Efecto del volumen de muestra.	39
Figura 25.	Efecto de la concentración de HNO ₃ en metanol en el proceso de elución.	40
Figura 26.	Comparación de electroferogramas. a) Muestra Control (Muestra blanco); E.I a 500.0 µgL ⁻¹ , b) Muestra patrón con E.I, Al(III), Pb(II), Cu(II) a 5.0 mgL ⁻¹ , c) Electroferograma de muestra real y E.I a 500.0 µgL ⁻¹ .	43

Índice de tablas

Tabla 1.	Residuos por disparo de un arma de fuego.	4
Tabla 2.	Reacciones en la prueba de Harrison Gilroy.	8
Tabla 3.	Tipos de surfactantes.	13
Tabla 4.	Porcentaje de retención conforme la composición del sólido adsorbente y el pH en la solución.	31
Tabla 5.	Isoterma de adsorción (Análisis Scatchard).	36
Tabla 6.	Parámetros de regresión de la curva de calibrado.	41
Tabla 7.	Contenido de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en muestras reales de disparo de arma de fuego.	42



ANTECEDENTES

1. Antecedentes

La ciencia forense se define como el conjunto de una variedad de disciplinas que tienen como objetivo particular la materialización de pruebas fehacientes, con efectos de carácter judicial mediante el uso de metodologías científicas. A nivel mundial se desempeña como una herramienta en el esclarecimiento de una gran variedad de delitos, permitiendo dar con certeza y veracidad un fallo en alguna resolución. (Rojo, et al., 2014).

El uso de armas de fuego ha ido en aumento a nivel mundial, como resultado de factores como: falta de regulaciones, monitoreo en procesos de venta, tráfico legal/ilegal, etc.

En años recientes la transgresión de los derechos humanos ha sido más evidente con motivos de la privación del derecho a la libertad y a la vida como efecto colateral. Diversos estudios han dilucidado que el número de bajas civiles incrementa proporcionalmente conforme incrementa la disponibilidad de cualquier tipo de arma de fuego (López, 2019). En diversos países desarrollados esta tendencia no siempre se presenta, pues la existencia de normas y sanciones severas regulan el uso parcialmente de forma efectiva, reduciendo considerablemente el número de efectos dolosos, caso contrario en países en subdesarrollo aunado a la presencia de grupos delictivos y conflictos armados afecta considerablemente el número de tragedias, tal y como se observa en la Figura 1 (Llaneras, 2018).

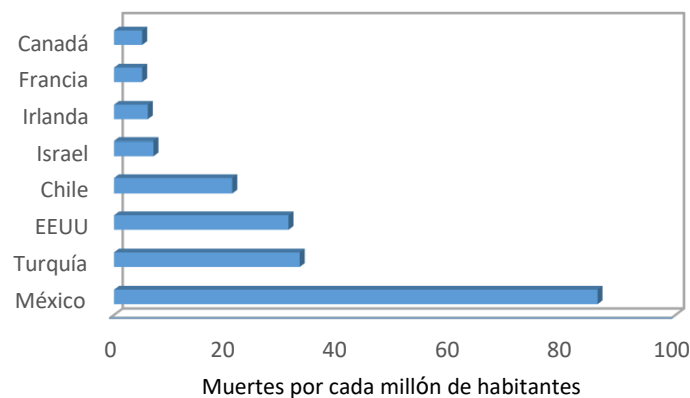


Figura 1. Países con mayor número de muertes por arma de fuego.

1.1 Arma de fuego

Un arma de fuego, se define como un instrumento o herramienta que permite atacar o defenderse en referencia al aspecto físico, ya que un arma puede lastimar físicamente o hasta matar a otra persona. Permite la propulsión de proyectiles, que son lanzados a gran velocidad para así hacer un impacto sobre su objetivo. Ejemplos de un arma de fuego son: rifle, revólver, pistola, ametralladora, fusil y la carabina.

De forma general un arma de fuego se conforma de (Figura 2): Gatillo (Figura 2a): dispositivo para accionar el percutor, Percutor (Figura 2b): es el medio de acción que va a golpear al cartucho para que inicie el proceso de ignición y se dispare la bala (munición), Cañón (Figura 2c): zona donde sale la bala, a su vez provee dirección y estrías a la bala, Cartucho (Figura 2d): objeto que alberga a todos los elementos que son necesarios para que pueda ocurrir el disparo en un arma de fuego y Munición (Figura 2e): objeto sólido a manera de proyectil, siendo este último el que permite descifrar si una persona ha disparado o no un arma de fuego.

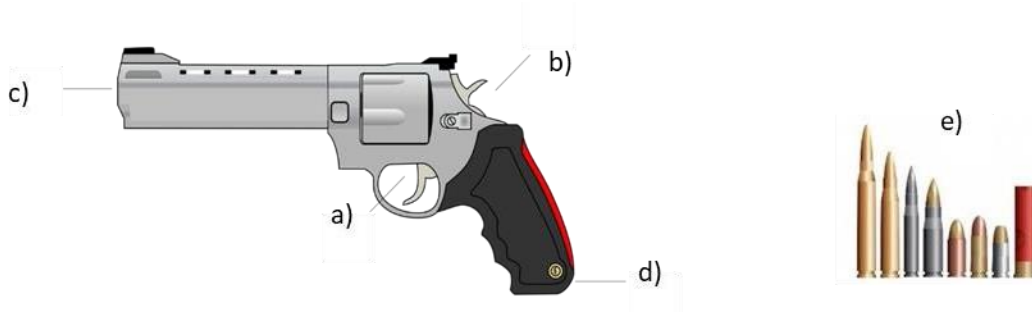


Figura 2. Partes de un arma de fuego (Colmenero, 2015).

1.2 Componentes de la munición

Casquillo: Recipiente metálico en el que se encuentra la carga de proyección y la cápsula detonante, cuya boca se une rígidamente a la bala, hecha por una aleación de metales (Colmenero, 2015).

Fulminante (cápsula iniciadora): Permite la ignición de la pólvora mediante una explosión por percusión.

Está constituido por trinitroresolcinato de plomo (explosivo), tetraceno (explosivo), nitrato de bario (oxidante), dióxido de plomo (oxidante), trisulfuro de antimonio (reductor y regulador de combustión) y siliciuro cálcico (reductor y regulador de la combustión). (Muños, 1997).

Pólvora: Compuesto propulsor de la munición o proyectil, a través de la obtención de altas presiones originadas a consecuencia de los gases resultantes de su combustión. Mezcla de componentes químicos que contienen gran cantidad de oxígeno, el cual les permite arder en conjunto, sin necesidad de oxígeno atmosférico. La pólvora arde rápidamente, dependiendo de su granulación (Romolo, 2004).

Proyectil: Objeto que se impacta, compuesta de uno o varios elementos (plomo, bronce, cobre o hasta madera) (Colmenero, 2015).



Figura 3. Componentes de la munición.

La percusión de un arma de fuego genera una serie de reacciones físico-químicas que dan origen a la producción de residuos, dentro de los cuales se destacan los nitritos y nitratos (residuos de pólvora), plomo, cobre (residuos del detonador), Ba(II) y Al(III) (residuos del iniciador), entre otros compuestos orgánicos e inorgánicos, tal y como se muestra en la Tabla 1. (Basu, 1982)

Tabla 1. Residuos por disparo de un arma de fuego

Residuos Orgánicos	
Compuesto	Función
Nitrocelulosa	Explosivo primario
Nitroglicerina	Explosivo primario
Nitroguanidina	Explosivo primario
Difenilamina	Estabilizador
Centralita de metilo y etilo	Estabilizador
Resorcinol	Estabilizador
Akarditas (I, II y III)	Estabilizador
Ftalato de dibutilo y dimetilo	Plastificante
Glicerol triacetato	Plastificante
Dinitrotolueno	Inhibidor Flash
Residuos Inorgánicos	
Elemento	Función
Aluminio	Componente de la vaina y del <i>primer</i>
Antimonio	Componente de la vaina, componente del <i>primer</i> y bala
Arsénico	Componente de la vaina
Bario	Componente del <i>primer</i> y carburante de la pólvora
Bismuto	Componente de la vaina
Cromo	Componente de la bala
Cobre	Componente de la vaina, bala y del <i>primer</i>
Hierro	Componente del cañón y bala
Plomo	Componente de la bala y del <i>primer</i>
Magnesio	Componente del <i>primer</i>
Mercurio	Componente del <i>primer</i>
Níquel	Componente de la vaina
Fosforo	Componente de la vaina
Potasio	Componente del <i>primer</i> y carburante de la pólvora
Estroncio	Componente del <i>primer</i>

Titanio	Componente del <i>primer</i>
Tungsteno	Componente de cañón
Zinc	Componente del <i>primer</i>

Conforme la generación de los residuos obtenidos mediante un disparo de arma de fuego estos quedan depositados sobre manos, prendas, superficies del arma de fuego, y por tanto la determinación y cuantificación de estos ya sea de forma individual o en conjunto, es indicativa de la percusión o manipulación de un arma de fuego. (Ditrich, 2012).

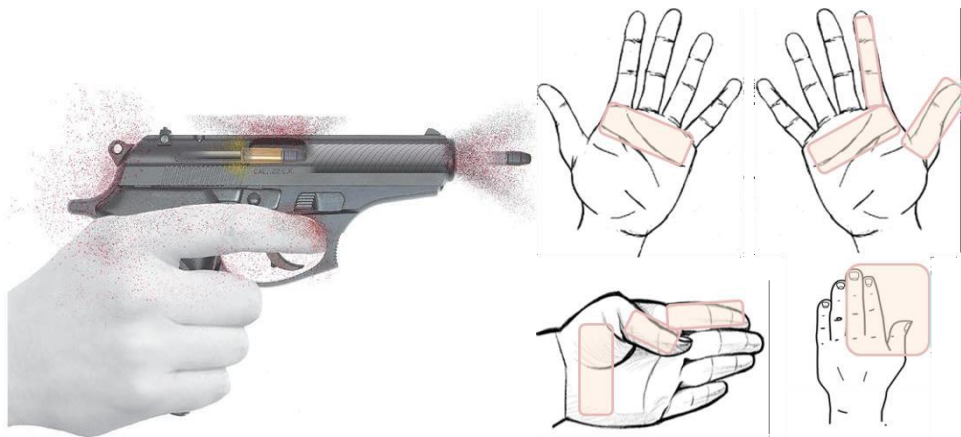


Figura 4. Zona o huellas de residuos de disparo de arma de fuego.

Debido a la importancia que tiene el análisis de residuos de disparo de arma de fuego (Gunshot Residues-GSR) en diversos ámbitos judiciales la intervención de la ciencia forense permite determinar de forma veraz si un individuo ha disparado o no un arma de fuego (Roeterdink, et al., 2004)

El principal objetivo del análisis de residuos de disparo de arma es corroborar una serie de posibles hipótesis como son: si una persona a manipulado un arma, definir con certeza el tipo de arma utilizada, o bien para confirmar la implicación de un sospechoso, lo que ha llevado al desarrollo de diversas técnicas analíticas que permiten su identificación y/o determinación de forma veraz y efectiva (Maitre et al., 2017). Dentro de los residuos inorgánicos, de mayor interés han sido el Pb(II) , Ba (II), Sb(III), Al(III) y Cu(II) como los iones que se encuentran en mayor proporción, por lo cual se han desarrollado una gran variedad de pruebas cualitativas y cuantitativas que permitan su identificación y determinación.

1.3 Identificación de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en residuos de disparo de arma de fuego

1.3.1 Pruebas cualitativas

1.3.1.1 Prueba de parafina

Técnica presentada en el año de 1922, en la que se emplea parafina para dilucidar la presencia de nitratos provenientes de la composición de los explosivos primarios mediante su reacción con difenilamina en medio ácido denominado como reactivo de Guttman cuya reacción origina un compuesto de color azul (Figura 5) (Tagliaro, et al., 2002).

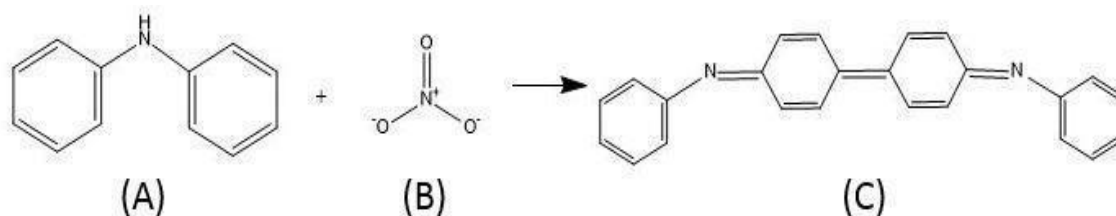


Figura 5. Reacción química de la prueba de parafina. (A) Difenilamina, (B) Nitratos, (C) N-N'-Difenilbenzidina.

El análisis cualitativo consiste en impregnar y/o humedecer la mano o prenda en parafina caliente, una vez solidificada se pone en contacto con una solución 0.25% de difenilamina preparada en ácido sulfúrico concentrado. La reacción química presenta una coloración azul en el área del molde de parafina y con base a la dispersión presentada en las prendas se puede determinar la distancia del disparo. Sin embargo en años recientes, esta técnica ha quedado en desuso pues tiene un alto porcentaje de falsos positivos debido a la presencia de iones nitrados en el ambiente (Turkel, et. al., 1955).

1.3.1.2 Prueba de Harrison-Gilroy

La prueba de Harrison-Gilroy está diseñada para identificar residuos de disparo de arma de fuego mediante la formación de complejos manifestados con la presencia de manchas o puntos coloreados ocasionados por partículas de Pb(II), Ba(II) y Sb(III), donde los últimos dos son de poca abundancia en la naturaleza. (Sosa, 2012). La prueba emplea rodizonato de sodio como ligante de Pb(II) y Ba(II) (Figura 6), mientras que el yoduro de trifenilmetilarsonio permite la detección de Sb(III) (Giannelli, 1991).

Esta prueba consiste en frotar la piel de las manos del sospechoso con hisopos humedecidos con una solución de ácido clorhídrico diluido para recolectar los iones presentes una vez percutida el arma de fuego, subsecuentemente el hisopo es secado a temperatura ambiente para después ser tratados con una solución de yoduro de trifenilmetilarsonio en metanol, mismo que sirve en la determinación de antimonio, posteriormente son secados nuevamente y se finaliza con la adición de una solución de rodizonato de sodio. (Dockery, et al., 2003).

Para la determinación de Sb(III), el yoduro de trifenilmetilarsonio reacciona para dar un complejo color naranja, mientras que la reacción de rodizonato de sodio con residuos de Pb(II) y Ba(II) produce un complejo rojo escarlata o rosa marrón respectivamente.

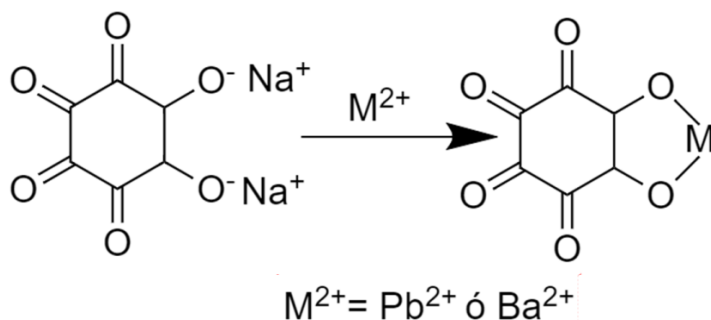
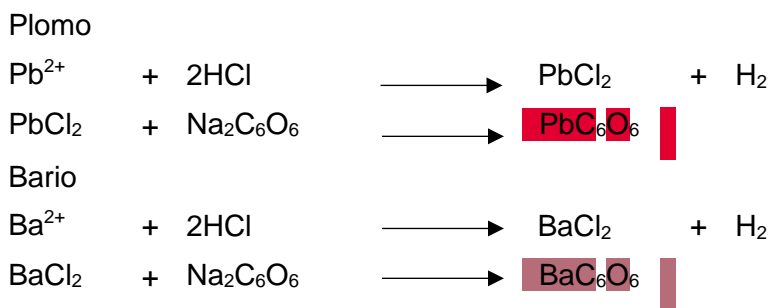


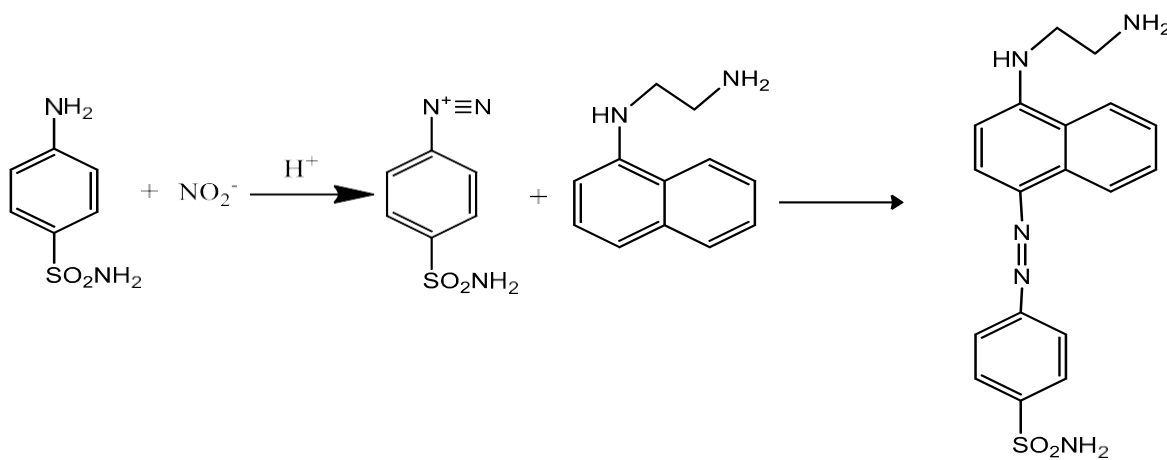
Figura 6. Esquema de reacción de la prueba de Harrison-Gilroy.

Tabla 2. Reacciones en la prueba de Harrison Gilroy

Debido a factibilidad en la detección de Pb(II), Ba(II) y Sb(III) la prueba de Harrison-Gilroy ha sido aceptada como prueba rápida, sin embargo una de sus limitantes es sin duda que es considerada solo una prueba presuntiva además de que puede presentar falsos positivos, lo cual implica el incriminar a una persona inocente (Cervantes, 2013).

1.3.1.3 Prueba de Griess

La prueba de Griess permite la determinación de nitritos una vez percutida el arma de fuego, lo cual posibilita la obtención de nitritos con una estructura quinoide entre los nitritos y una amina primaria pasando por una sal de diazonio (Cervantes, 2013). La prueba de Griess requiere del uso de hisopos humedecidos en agua destilada que se han de frotar en las regiones donde se sospecha impactó el proyectil. El hisopo con la muestra se coloca en un vidrio de reloj y se le añaden gotas de ácido acético al 25%, ácido sulfanílico al 5%, α -naftilamina al 5% en metanol y por último nitrito de potasio (Figura 7). De ser positivo el análisis, el hisopo se tornará de un color rojo-anaranjado. (Yüksel, et al., 2019).

**Figura 7.** Esquema de reacción en la obtención del compuesto azoico.

1.3.2. Técnicas cuantitativas

1.3.2.1 Técnicas Cromatográficas

Las técnicas cromatográficas fueron empleadas por primera ocasión a principios del siglo XX en la separación de pigmentos provenientes de plantas. De forma general las técnicas cromatográficas tienen como común denominador el uso de una fase estacionaria y una fase móvil. Es entonces que los constituyentes de una mezcla, pasan a través de una fase estacionaria mediante el flujo de una fase móvil, donde la separación analítica se permite mediante la distribución de los analitos entre las fase estacionaria y fase móvil, donde los analitos son separados, basada en las diferencias de las velocidades de migración (Skoog et al., 2006).

Las técnicas cromatográficas son aquellas que se especializan en la separación y análisis de residuos orgánicos, siendo la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) las técnicas más usadas, debido a su eficiencia y a la posibilidad en el análisis (De Castro et al., 2015).

- **Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)**

Técnica empleada en el análisis de residuos de disparo de arma de carácter orgánico como: difenilamina, nitroglicerina y dinitrotolueno, obteniéndose buenos resultados usando columnas no-polar del tipo C_{18} y una mezcla de metanol-agua como fase móvil (Dalby et al., 2010).

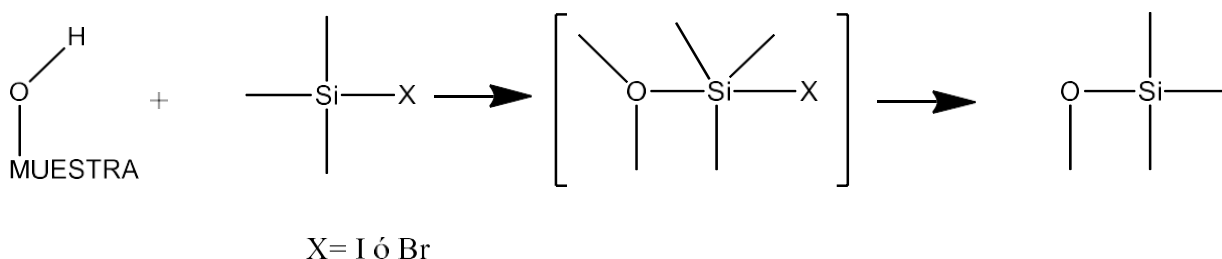
Aunque HPLC goza de una buena sensibilidad, existe una posibilidad de que no se pueda colectar una cantidad necesaria para el análisis, ya que estos se encuentran en menor proporción frente a los residuos del tipo inorgánicos por arma de fuego, siendo así un pequeño inconveniente para la determinación de los mismos (Tarifa et al., 2015)

- **Cromatografía de gases (GC)**

La técnica GC es empleada para la separación de componentes volátiles presentes en una matriz analítica, donde estos se reparten en una fase gaseosa (fase móvil) y una fase sólida (fase estacionaria) contenida dentro de una columna (Skoog et al., 2006).

La aplicación de GC ha sido muy diversa en la separación y determinación de una gran variedad de analitos orgánicos: fármacos, pesticidas, entre otros como son la difenilamina (Gutenmann y Fisk, 1963) y el dinitrotolueno (Bader et. al. 1968), compuestos presentes en residuos por arma de fuego, para su determinación se emplean columnas del tipo fenil metil polisiloxano, polietilenglicol y poldimetilsiloxano, dependiendo la polaridad del analito. Sin embargo, en ocasiones, debido a la naturaleza del analito, puede requerir tratamientos de la muestra específicos como son procesos de derivatización como la silación y acilación tal y como se observa en la Figura 8, que consisten en el cambio de las propiedades químicas del analito para su separación mediante el uso de reactivos como: bromuro de alquilo, ácido clorhídrico, éster N-hidroxisuccinimida, cloroformatos de alquilo y ésteres trimetilsilil, entre otros (Moldoeanu, et al., 2019).

SILACIÓN



ACILACIÓN

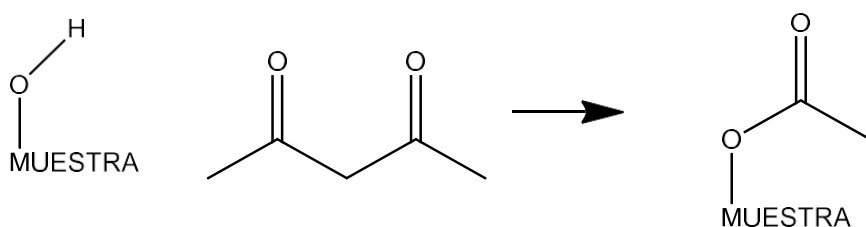


Figura 8. Esquema de derivatización.

En residuos de disparo de arma de fuego mediante GC se han determinado dinitrotolueno, naftaleno, pireno, entre otros, empleando columnas no polares y de baja polaridad entre otras como la HP-5MS, Rtx-1 (ambas de fenil-metil posiloxano) y DB-VRX, siendo el He la fase móvil que predomina, mientras que para analitos como difenilamina y la etil centralita (N,N'-Dietil carbanilida) se han empleado agentes derivatizantes (cloruro de dansilo y nitración vía nitrosación) con procesos de reacción de los 50°-120°C y 30 min-70 hrs permitiendo así su detección directa, alcanzando límites de detección en el orden de mgL^{-1} y μgL^{-1} .

1.3.2.2. Técnicas no cromatográficas

- **Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV-Vis)**

Su fundamento es la medición de radiación absorbida dada una longitud de onda determinada. Esta absorbancia obedece la Ley de Lambert-Beer que es directamente proporcional a su concentración. Esta técnica espectroscópica se utiliza en la determinación de compuestos cromóforos que en su estructura poseen grupos funcionales específicos que permiten la detección cuantitativa a una longitud de onda específica. A menudo, se recurre a la complejación, ya que en muchos los analitos por si solos no presentan alguna coloración, pero si formando un complejo con alguna especie principalmente orgánica, con pares de electrones no compartidos con grupos insaturados. (Cervantes, 2013).

- **Espectroscopia de absorción atómica (AAS)**

La espectroscopia de absorción atómica es una de las técnicas más empleadas en análisis cuantitativos de una gran variedad de metales, en el que los analitos se llevan a su nivel atómico mediante procesos de atomización. La radiación emitida a cierta longitud de onda es absorbida selectivamente por átomos que poseen diferentes niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponde en valor a la energía de los fotones que indican en tal variación captada. Los equipos de AAS contienen un cátodo hecho del material del analito además de un ánodo, que son rellenos con algún gas noble. Las lámparas emiten "líneas de excitación" para elevar el estado de energía de los átomos misma que será cuantificada por los detectores correspondientes (Ulrich, 2003).

La AAS es la técnica por excelencia para la determinación de metales en el análisis de residuos de disparo de arma de fuego, aunque la técnica puede requerir su acoplamiento a detectores específicos o de una gran variedad de técnicas de pre-tratamiento para alcanzar los límites de detección y cuantificación necesarios (Koirtyohann, 1991).

El elemento más analizado mediante esta técnica es el Pb(II), sin embargo ante los avances de esta técnica se amplió la determinación a algunos metales como el Ba(II) y Sb(III).

- **Electroquímicas (Voltamperometría)**

En años recientes, en la búsqueda de alternativas en la determinación de residuos de disparo por arma de fuego, una técnica salió a relucir por la sencillez denominada como voltamperometría, técnica electroquímica que consiste en la aplicación de un voltaje variable, con la cual se mide la intensidad de corriente a distintos puntos (Achterberg et al., 2018). Esta técnica tiene como fundamento la cuantificación de corriente en una celda electroquímica en total estado de polarización debido a la concentración del analito, donde la rapidez con que la masa del analito es depositada en la superficie del electrodo regirá la velocidad de oxidación o reducción de la misma muestra (Skoog et al., 2006).

El principal analito de interés para este tipo de análisis fue Sb(III) y se utilizaban electrodos de mercurio, posteriormente se introdujo el análisis de otros metales como Pb(II) y Cu(II), permitiendo el análisis de iones metálicos posterior a una descarga de arma de fuego. (Woolever, et al., 2001). Sin embargo las técnicas electroquímicas pueden presentar inconvenientes en el análisis multianalito ya que conforme a los potenciales de los iones, estos pueden interferir en muchos de los casos (Scholz, 2015).

- **Electroforesis capilar (CE)**

El término electroforesis hace referencia al movimiento diferencial de analitos iónicos (incluso neutros) por atracción o repulsión en un campo eléctrico dado por una diferencia de potencial eléctrico entre dos electrodos. Las señales o picos de un electroferograma son generados debido a la concentración de la especie y su velocidad de migración. Esta velocidad de migración dependerá de la movilidad electroforética, que a su vez depende de factores como tamaño y carga del analitos: a una mayor carga y menor tamaño de la especie se verá un incremento en la velocidad de migración (Issaq, 2000). Uno de los principales efectos que constituyen una separación por electroforesis capilar, es la generación del flujo electrosmótico (FEO), originado mediante el contacto un electrolito y una solución iónica en una superficie sólida cargada. Por ejemplo, en una polaridad positiva las especies con carga negativa se han de mover después del FEO, mientras que para las especies con carga positiva, se anticiparan al FEO, moviéndose más rápido que él. Para las especies neutras su movimiento se dan al mismo tiempo que el FEO ya que son “arrastradas” por este (Revilla, 2005). Conforme a la naturaleza de los analitos dentro de las principales técnicas electroforéticas más utilizadas se encuentran:

- **Cromatografía Capilar Electrocinética Micelar (MEKC)**

Esta modalidad es una combinación de electroforesis y cromatografía, fue presentada por primera vez en 1984. Es utilizada principalmente para la separación de muestras neutras, aunque también para analitos con carga. Se hace uso de surfactantes conforme su concentración micelar crítica (Tabla 3), formando micelas con extremos hidrofóbicos hacia el centro y así evitar interacciones con la solución electrolito soporte hidrofílico, y los extremos hidrofílicos cargados, con dirección hacia el electrolito soporte (Volonte et. al., 2013).

Tabla 3. Tipos de surfactantes

Clasificación	Nombre	Concentración micelar crítica (CMC) (mM)
Aniónicos	Dodecil Sulfato de Sodio DDS	8.2
Catiónico	Dodeciltrimetilamonio, bromuro de DTAB	14
	Cetiltrimetilamonio, bromuro de CTAB	1.3
	Octilglucósidos	----
No Iónicos	n-D odecil- β -D-maltosido	0.16
	Triton X-100	0.2

- **Electroforesis Capilar de Zona (CZE)**

Es la modalidad de electroforesis capilar más utilizada por la simplicidad de operación. Su principal uso es en el análisis de moléculas de peso molecular bajo. Consiste en llenar el capilar con electrolito soporte adecuado y la migración de especies se da en zonas discretas y a diferentes velocidades dependo en gran medida del tamaño y carga que presenten los iones, siendo que analitos catiónicos y/o de menor tamaño tienen un tiempo de migración corto, seguidos por analitos neutros y al final con un tiempo de migración mayor se encuentran los analitos de mayor tamaño y/o aniónicos (Figura 9). La eficacia en la separación depende primordialmente de la selección del electrolito soporte, fuerza iónica, pH, voltaje aplicado, temperatura, entre otras. Algunos de los electrolitos soporte retardan la aparición del FEO, provocando un cambio en el tiempo de migración de los analitos y en determinados casos aumentando la estabilidad de los compuestos (St. Claire, 1996).

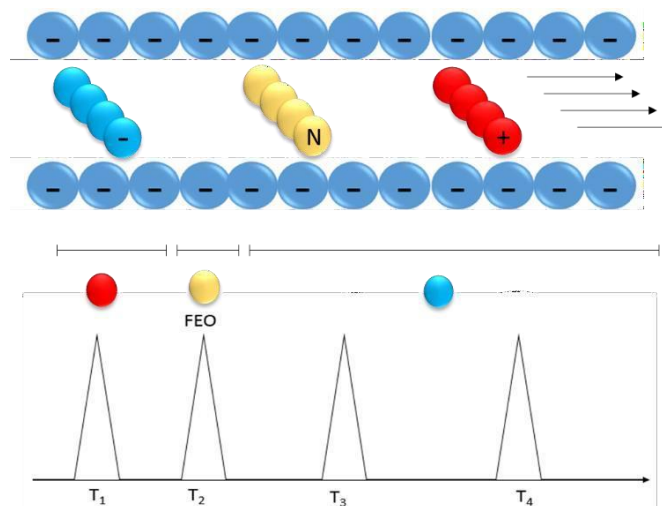


Figura 9. Movimiento electroforético de analitos catiónicos, neutros y aniónicos.

La electroforesis capilar es una herramienta versátil, ya que puede ser utilizada para la separación, determinación y cuantificación en una gran variedad de elementos y moléculas (orgánicas e inorgánicas), como: ácidos orgánicos, aminoácido, carbohidratos e iones metálicos, presenta además ventajas como tiempos cortos de análisis, buena sensibilidad y el uso de bajas cantidades de muestra. (Issaq 2002, Soga e Imaizumi 2001). Primordialmente, el detector utilizado en CZE es el detector UV-Vis en el análisis de compuestos con grupos cromóforos. Mientras que para el análisis de compuestos inorgánicos (metales), su determinación y análisis se lleva por dos rutas principales.

La primera de ellas se lleva por detección indirecta mediante la adición de un compuesto cromóforo como parte de la composición de la solución electrolítica. En una segunda ruta, se lleva a cabo la formación de un sistema complejométrico empleando ligantes que en su estructura posean grupos cromóforos como el nitrilotriacetato (NTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), 1- pirrolidinditiocarbamato (PDC), de esta manera el análisis se lleva primordialmente en la zona de los aniones (Baraj et. al., 1995).

Electroforesis en comparación con otras técnicas de análisis posee una serie de ventajas como son volumen de muestra en el orden de nanolitros, no requiere del uso de solventes tóxicos, por lo que es una técnica amigable con el medio ambiente, cortos tiempos de análisis, siendo una técnica no destructiva, no requiere de una manipulación compleja ni personal calificado, permitiendo el análisis en simultaneo de un gran número de analitos en matrices complejas (Voegel y Baldwin, 1997).

Sin embargo, dentro de los puntos a considerar en cualquier técnica de análisis es el tratamiento de la muestra (toma de muestra, almacenamiento, y pre-tratamiento) considerado como un factor crucial en el análisis de iones metálicos en residuos de disparo de arma de fuego (Gassner et al., 2016). Un manejo inadecuado puede ocasionar la contaminación de la muestra, originando así en la obtención de análisis con falsos positivos o negativos, por lo que es importante seleccionar de manera adecuada la toma de muestra, y el método de pre-tratamiento analítico.

1.3.3. Técnicas de pre-tratamiento

Dentro de las técnicas de pre-tratamiento de la muestra, al hablar del estudio de residuos metálicos del orden traza o ultratrazo se habla de una matriz compleja, lo que conlleva a la necesidad de recurrir a técnicas para el tratamiento de la muestra como:

1.3.3.1. Extracción en fase sólida (Solid Phase Extraction, SPE)

La extracción en fase sólida fue una técnica desarrollada en respuesta a las desventajas que tenían otras técnicas hasta antes de 1970 como la extracción líquido-líquido. La SPE requería un menor tiempo, no utilizaba solventes orgánicos tóxicos o ultrapuros, y no consumía un gran volumen de los mismos, tal como lo hacía la extracción líquido-líquido. Esto significó una nueva técnica que aparte de eficiente era amigable al medio ambiente (Liška 2000).

Esta técnica se fundamenta en la partición de compuestos entre dos fases, como se muestra en la Figura 10. En una primera etapa la fase sólida es activada mediante la adición de solventes orgánicos como metanol y etanol, permitiendo mejorar el grado de interacción analito:adsorbente (Figura 10.1). La muestra en estado líquido se hace pasar a través de la columna para llevar a cabo la retención del analito de interés en la fase sólida (Figura 10.2), la cantidad de analito retenido dependerá del flujo con el que se pase la solución por la columna. Posteriormente en una etapa de lavado, los interferentes contenidos en matriz analítica son eliminados (Figura 10.3), subsecuentemente en una última etapa (Figura 10.4) los analitos retenidos en la fase sólida son eluidos mediante la adición de un solvente orgánico que proporcione una mayor afinidad en comparación a la ocurrida en el proceso de extracción (Andrade et al., 2016).

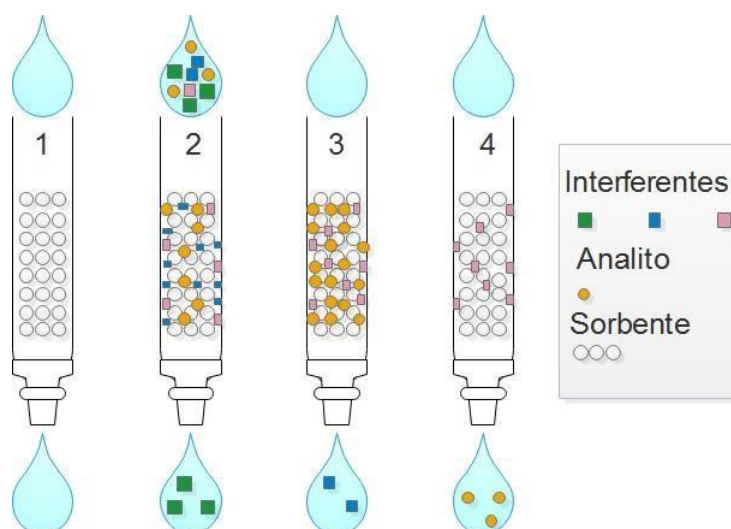


Figura 10. Descripción del proceso de SPE.

A lo largo del desarrollo de la técnica de SPE se han usado distintos tipos y modalidades de sólidos selectivos en sistemas de pre-concentración y análisis de Pb(II), Al(III), Cu(II) y Ba(II) como son: materiales poliméricos principalmente basados en sílice con grupos amino, y con la adición de materiales carbonosos como grafeno, óxidos de grafeno, nanotubos de carbono (Xie, et al., 2008). En el desarrollo de diversas técnicas, SPE además de proveer una gran variedad de ventajas, en el pre-tratamiento de muestras complejas puede presentar la saturación del cartucho haciéndolo inutilizable. Sin embargo, SPE ha sido el precursor en el desarrollo de otras técnicas las que se describen a continuación.

1.3.3.2. Extracción en fase sólida magnética (Magnetic Solid Phase Extraction, MSPE)

MSPE ha implicado una alternativa a la SPE, en el uso de adsorbentes con propiedades paramagnéticas funcionalizadas a base de sílices u óxidos de alúmina. (Suleiman, et al.,2009). Los usos que se le ha dado a esta técnica han sido para la inmovilización de proteínas, enzimas y otros agentes bioactivos también en el análisis de compuestos orgánicos e inorgánicos además del aislamiento de bacterias magnéticas provenientes de sedimentos marinos, detección de pesticidas, fármacos, antibióticos, y metales pesados en el medio ambiente (Vasconcelos y Fernandes 2017).

A diferencia de la SPE, la MSPE se fundamenta en la dispersión del sólido en la muestra líquida para así permitir la retención selectiva de los analitos de interés. De acuerdo a la Figura 11, MSPE se basa en la activación y dispersión del sólido en la muestra líquida (Figura 11.1) donde el analito es adsorbido en la superficie del sólido magnético, posteriormente el sólido es aislado con los analitos retenidos mediante la aplicación de un campo magnético externo (Figura 11.2), en una tercera etapa se descarta el sobrenadante con los interferentes (Figura 11.3), finalmente (Figura 11.4) mediante la solución de solventes orgánicos se lleva a cabo la remoción de los iones metálicos de forma selectiva (Šafaříková, 1999).

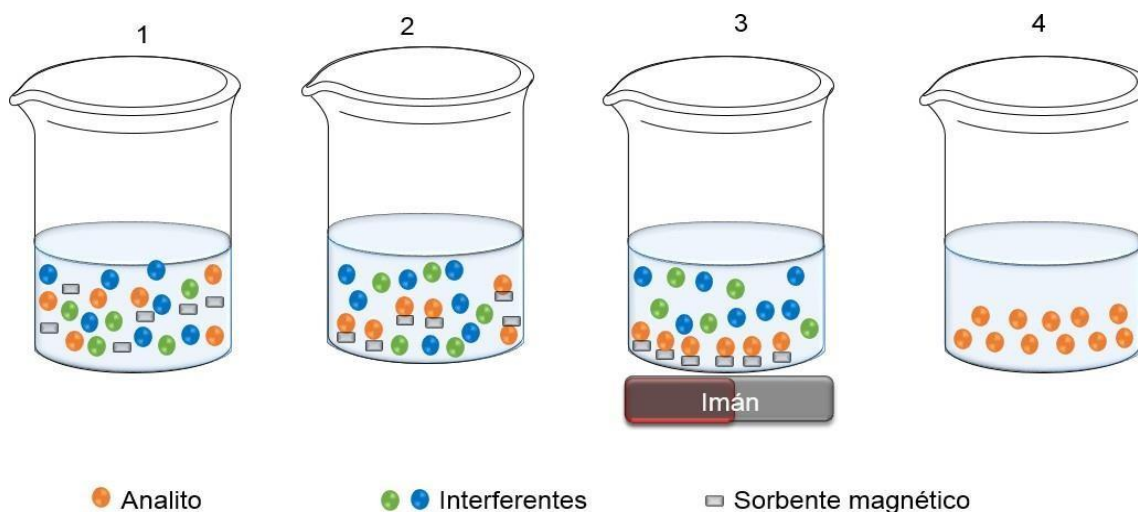


Figura 11. Descripción del proceso MSPE.

Dentro de los sólidos más utilizados en la MSPE en el análisis de iones metálicos son aquellos derivados de grafeno como: grafeno/ Fe_3O_4 nanocompuesto de politiofeno, óxido

de grafeno/ Fe_3O_4 nanocompuesto, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{SiO}_2/\text{P}(\text{MMA-EDGMA})$ y Co-polímeros (Zhou, et al., 2017).

1.3.3.3 Extracción en fase sólida dispersiva (Dispersive Solid Phase Extraction, DSPE)

La metodología fue mencionada por vez primera en el año 2003 por Anastassiades (Andrade, et al., 2016) en la que se mencionaba la dispersión del adsorbente dentro de la misma solución de la muestra, asegurando así un incremento del área de contacto entre las dos fases lo que resulta en una mayor interacción entre el analito y el adsorbente. (Plotka, et al., 2015).

De una manera similar a MSPE, la DSPE (Figura 12), el adsorbente se agrega directamente a la solución de la muestra bajo la siguiente secuencia: (Figura 12.1) dispersión del sólido en la muestra, es puesto a agitación durante un determinado tiempo, hasta que las dos fases hayan interactuado lo suficiente (Figura 12.2). Cuando se termina la agitación, la muestra se somete a centrifugación hasta que el sólido se deposite en la parte inferior del recipiente (Figura 12.3). Para eliminar los interferentes de la solución se hacen lavados con solvente (Figura 12.4). Por último, para poder extraer el analito, se hace eluir con un solvente adecuado (Figura 12.5) (Ahmadi et. al., 2017).

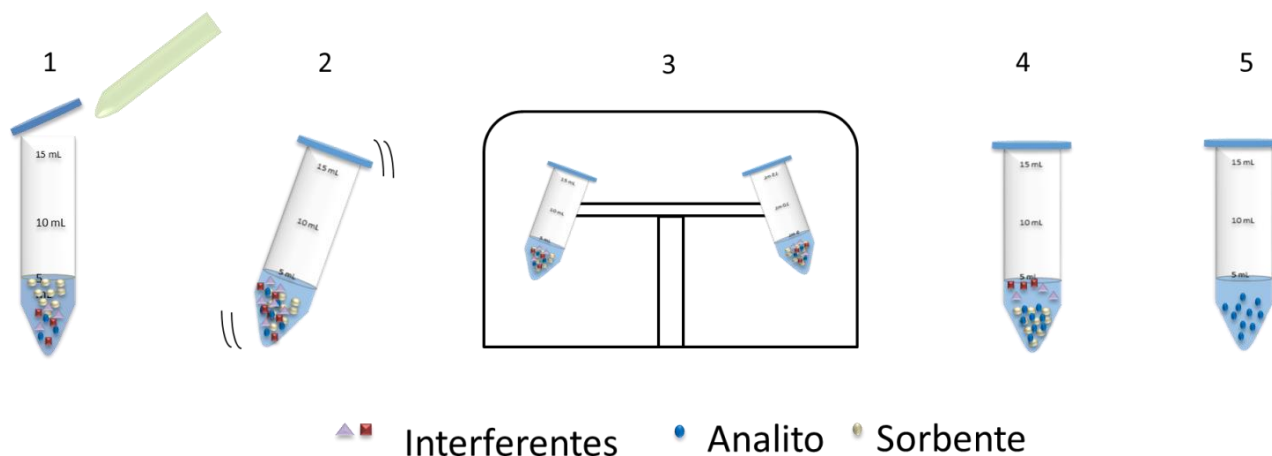


Figura 12. Descripción del proceso DSPE.

Los resultados del desarrollo de esta técnica son la reducción en tiempo, costos, permitiendo obtener menores límites de detección en su acoplamiento con técnicas de determinación en el uso de grandes volúmenes de muestra (Islas, et al., 2017). La eficacia de esta técnica recae primordialmente en la afinidad de los analitos por el sorbente.

Los más usados son los que tienen una base de sílica funcionalizados con características polares, no polares y de polaridad media como son: R-Fenil, R-C₈, R-C₁₈, R-OH, y R-NH₂, este último en la retención de iones metálicos (Mⁿ⁺), aunque también se han empleado el uso de grupos funcionales de polaridad mixta (Dalby, et al., 2009). Sin embargo en la actualidad los adsorbentes funcionalizados con grupos amino, han destacado por bajos costos de síntesis y una alta eficacia en la adsorción de metales pesados como Cd(II) Ni (II) Pb(II) y Cr(VI) en matrices acuosas (Najafi et. al., 2012 y Pan et. al., 2016).

Conforme a las ventajas que ofrece la DSPE el presente trabajo plantea el uso de adsorbentes funcionalizados con grupos amino en la retención y pre-concentración selectiva de residuos de disparo de arma de fuego mediante extracción en fase solida dispersiva (Andrade et al., 2016 y Płotka, et al., 2015).

1.4 Isotherma de adsorción (Análisis Scatchard)

El análisis de Scatchard es un método de linalizacionzación de datos específicamente del enlace de saturación a través de la determinación de las constantes del enlace. Estos datos pueden ser representados de manera gráfica lo que ofrece un apoyo visual para conocer la afinidad y concentración de los sitios de unión del receptor (adsorbentes). El análisis, amplía la importancia de los datos de unión obtenidos a baja concentración de ligante. (Suen, 1997)



OBJETIVOS

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Síntesis de sólidos funcionalizados con aminopropil silano útiles en el análisis de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en residuos de disparo de arma de fuego por electroforesis capilar

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar las condiciones de separación de Al(III), Pb(II) y Cu(II) por electroforesis capilar
- Diseñar, sintetizar y caracterizar sólidos adsorbentes funcionalizados con grupos amino de elevada selectividad analítica
- Evaluar las condiciones de extracción en fase sólida dispersiva
- Aplicación del método analítico en el análisis de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en residuos de disparo de arma de fuego.



METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3. Metodología experimental

3.1 Materiales y reactivos

Todas las soluciones fueron preparadas disolviendo los reactivos grado analítico en agua desionizada con una resistividad no menor a $18.2 \text{ M}\Omega^{-1} \text{ cm}^{-2}$, misma que fue proveída por un Milli-Q system (Millipore, Bedford, MA, USA). La sal sódica de EDTA e hidróxido de sodio fueron obtenidos de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA). El metanol fue obtenido de Mallinckrodt Baker (Xalostoc, México). La solución electrolito soporte consiste de 20 mM de tetraborato de sodio $\text{Na}_2(\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4)$, 2 mM de sal disódica de EDTA; el pH de la solución es ajustada a un pH de 9 con 0.1M de hidróxido de sodio. Los adsorbentes fueron sintetizados usando (3-Aminopropil) trimetoxysilano (97% APTMS) y tetrametil ortosilicato (98% TMOS) de Sigma Aldrich (St. Lois, MO, USA). La síntesis de los monómeros se realizó utilizando Triton X-100 y bromuro de hexadeciltrimetilamonio (98% CTAB) como surfactantes de Sigma Aldrich (St. Lois, MO, USA).

3.2 Equipos

La separación por electroforesis se llevó a cabo utilizando un equipo Beckman Coulter P/ACE 5500 (Fullerton, CA, USA) con detector de arreglo de diodos. Los datos fueron obtenidos y analizados con un software Beckman P/ACE system MDQ versión 2.3. La separación de los iones metálicos se llevó a cabo en capilar de sílice fundida (41.7 cm x $0.75 \mu\text{m}$ de diámetro interno). Para la dispersión se utilizó un Maxi-Mix I (Barnstead/Thermolyne, IA, USA) como vortex.

La caracterización del sólido se realizó mediante infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) en un equipo Pekin Elmer con transformada de Fourier (FTIR) modelo de espectrofotómetro IRDM.

La morfología y el tamaño de partícula fueron estudiados en un Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM-820.

La estabilidad térmica del sólido funcionalizado fue estudiada usando un TGA Universal Analyzer 200 con un software Universal V4.7A, con una rampa de 30°C - 600°C .

3.3 Condiciones de separación para el sistema CE-UV

Las condiciones de separación por (CE-UV): modo de inyección hidrodinámico a 0.5 psi durante 5 seg, capilar a temperatura 25°C, voltaje de separación 16 kV y separación en polaridad normal a una longitud de onda (λ) de 215 nm (Ali et. al., 2002 y Pacáková et. al., 1999) y un electrolito soporte que consta de una solución 20.0 mM de tetraborato de sodio $\text{Na}_2(\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4)$, 2.0 mM de sal disódica de EDTA ajustada a un pH de 9.0 con 0.1M de hidróxido de sodio, con un tiempo de análisis de 10.0 min utilizando $500 \mu\text{gL}^{-1}$ de benzoto de sodio ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$) como estándar interno (Macka et. al., 1997 y Kobayashi et. al., 1998).

Al inicio de cada día de trabajo, es activado el capilar con NaOH 1.0 M durante 15.0 min, seguido por NaOH 0.1 M por 10.0 min, agua desionizada durante 10.0 min y por último la solución de electrolito soporte (20 mM de $\text{Na}_2(\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4)$, 2mM de sal disódica de EDTA ajustada a un pH de 9.0) durante 10.0 min .

Entre cada análisis se realizaban lavados conforme la secuencia: NaOH 1.0 M por 2.0 min, NaOH 0.1 M por 1.0 min, agua desionizada por 1.0 min, y solución electrolito soporte durante 2.0 min. Cada uno de los lavados se realiza con una presión de 20.0 psi.

3.4 Síntesis del sólido constituido por sílice-NH₂

La síntesis de los sólidos adsorbentes para su uso en la técnica DSPE se lleva a cabo mediante polimerización por precipitación, mezclando APTMS (parte monomérica) y TMOS (agente entrecruzante) a diferentes ratios molares.

Los precursores de sílice se solubilizan previamente en 24.0 ml de una solución metanólica que contenía 2.0% (p/v) de Triton X-100, CTAB al 0.02% (p/v) y 1.0 mL de NH_4OH (como catalizador). La mezcla se calienta a reflujo a 120°C durante 16 h con agitación (Figura 13). El precipitado obtenido se recupera mediante centrifugación y posteriormente decantación. Para eliminar partes no reaccionantes se lava el adsorbente mediante la siguiente secuencia 3 ocasiones con 5.0 ml de metanol y posterior 3 veces con 5.0 ml de agua destilada, secado a 60 °C durante 24 hrs (Ibarra et. al 2011).

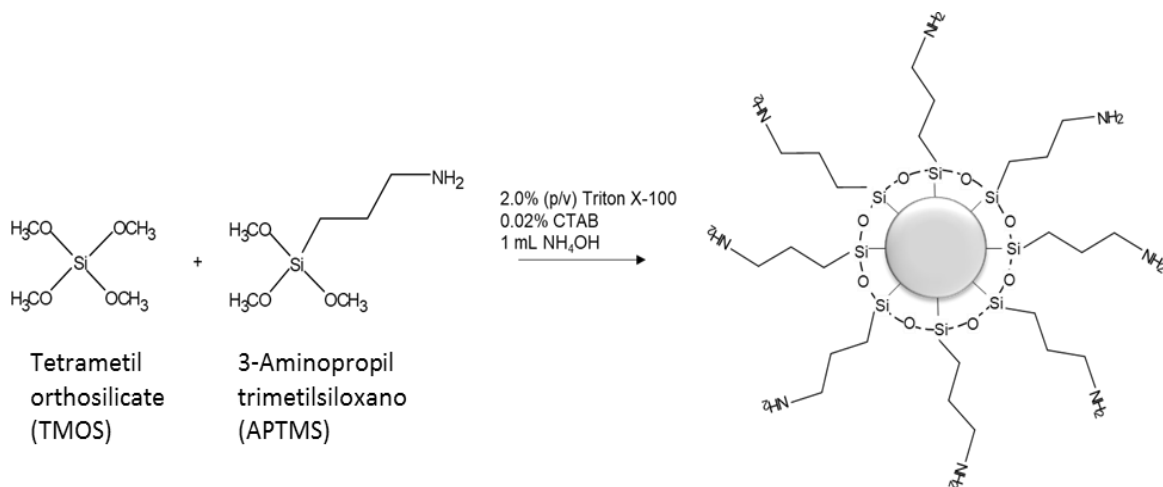


Figura 13. Esquema de síntesis del sólido adsorbente (sílice-NH₂).

3.5 Optimización del método por DSPE

La optimización del sistema se realizó por medio del método univariable consiste: 1) reconocimiento de las variables a optimizar, 2) identificación y elección de componentes que afectan el sistema, 3) evaluación del efecto de cada factor permaneciendo constantes los factores previamente evaluados 4) establecer las condiciones óptimas. En la optimización de cada variable se utilizó una solución patrón de 5.0 mgL⁻¹ de cada uno de los metales.

3.6 Aplicación del método

Conforme la zona de estudio, la mayor cantidad de residuos de disparo de arma de fuego, se encuentran en la región palmar y dorsal de la mano, para ello se toma un hisopo humedecido en una solución de ácido nítrico 1 x 10⁻³ M, se limpia la zona de interés, posteriormente el hisopo es almacenado para su posterior análisis mediante electroforesis capilar. La muestra blanco se obtuvo previó al realizar el disparo de arma de fuego para cada individuo.

Conforme la Figura 14 en una primera etapa, la parte superior del hisopo que contenía los residuos por disparo de arma de fuego (Gunshot Residues, GSR de sus siglas en inglés) se cortó y añadió a un tubo de polipropileno con 5.0 mL (Figura 14a) de agua desionizada y se mantuvo en dispersión en vortex por 10.0 min (Figura 14b). Transcurrido el tiempo de dispersión la solución resultante se pone en contacto con 10 mg del adsorbente previamente activado (1.0 ml de metanol, 5.0 min) por 20.0 min (Figura 14c) en dispersión permitiendo la adsorción de los analitos de interés. Posteriormente el adsorbente es aislado de la fase líquida mediante centrifugación por 5.0 min a 4000 rpm (Figura 14d).

Metodología experimental

El adsorbente se lava en tres ocasiones con agua desionizada por 5.0 min permitiendo así la eliminación de cualquier tipo de interferentes (Figura 14 e). En una tercera etapa los analitos retenidos son eluidos mediante la adición de 5.0 mL de metanol acidificado con 0.1 M de ácido nítrico por 5.0 min, trascurrido el tiempo de dispersión el sobrenadante es retirado, evaporado a sequedad y reconstituido en 1.0 mL de la solución de electrolítica con 500.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de estándar interno para su análisis (Figura 14f).

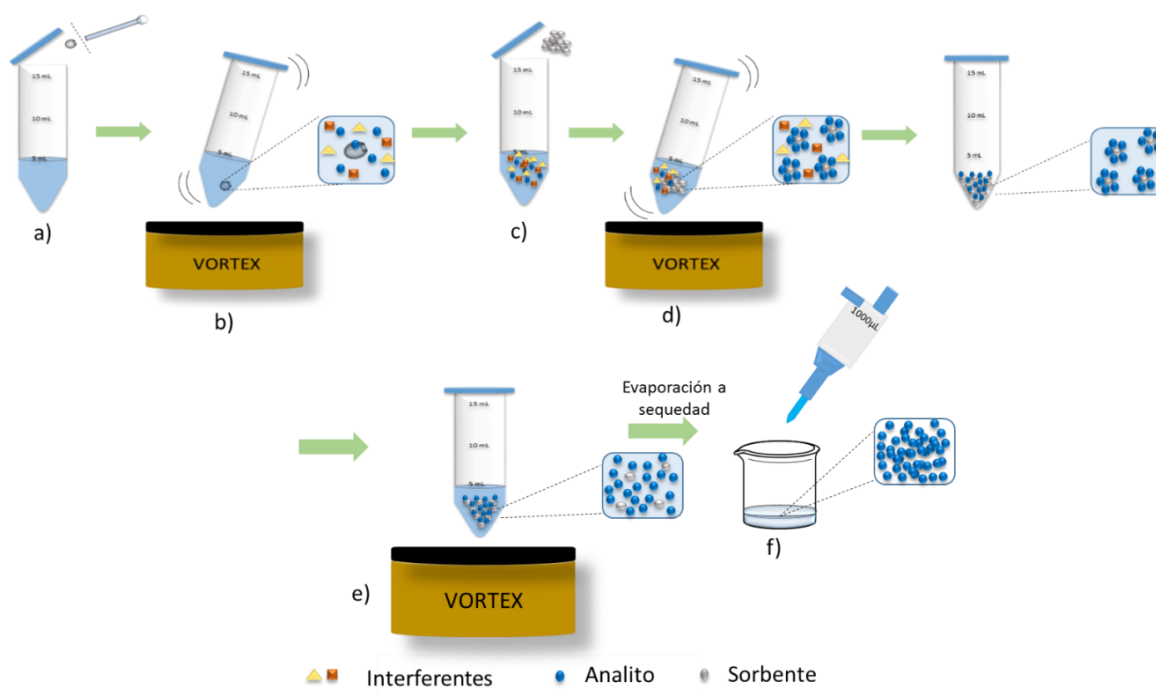


Figura 14. Esquema del proceso DSPE con la muestra real.



RESULTADOS Y DISCUSIONES

4. Resultados y discusiones

4.1 Evaluación de las condiciones de separación

4.1.1 Evaluación del sistema complejométrico

De acuerdo a la naturaleza química de los residuos de disparo por arma de fuego, se establecen las condiciones del sistema complejométrico (pH y cantidad de ligante) para la detección de los iones de interés. Dicha reacción permite la formación de complejos específicos con cargas negativas, permitiendo su separación analítica con una adecuada resolución en la señal (Weston et al. 1992).

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) ligante conocido por formar quelatos con cationes con estados de oxidación II III y IV con una relación molar (1:1). Conforme a la complejidad de la matriz analítica se evaluó la concentración de EDTA, buscando la relación adecuada que permita garantizar la complejación de los tres iones de interés. Sin embargo, debido a la presencia de múltiples iones metálicos en la matriz analítica puede originar equilibrios de competencia y disminuir la cuantificación de los iones de interés.

Para evaluar el efecto de la concentración de ligante en el sistema complejométrico, se tomaron 5.0 mgL⁻¹ de cada ion añadiendo concentraciones de EDTA de 2.5 a 40.0 mM bajo el siguiente esquema de reacción tal y como se muestra en la Figura 15, con el objetivo principal de verificar la completa complejación sin afectar el sistema electroforético.

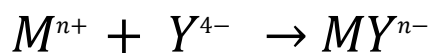


Figura 15. Esquema de complejación.

Conforme la Figura 16, los electroferogramas obtenidos muestran que a bajas concentraciones de EDTA (2.5-5.0 mM) (Figura 16a y 16b) se observa una buena separación de al menos dos de los analitos de interés, sin embargo la señal analítica disminuyen, en consecuencia disminuye la sensibilidad analítica, sin mencionar que la complejación se puede ver comprometida en presencia de interferentes así como en los niveles de concentración más elevados dependiendo del tipo de arma de fuego utilizada.

Por otra parte, conforme se incrementa la concentración de EDTA (10.0 y 15.0 mM) (Figura 16c y 16d) el sistema electroforético permite una separación y detección mejor que a las concentraciones anteriores, sin en cambio, apenas es visible una tercer señal. Para la Figura 20e con una concentración de EDTA de 20.0 mM, ya son visibles las 3 señales analíticas con una buena resolución mientras que cuando se tiene una concentración de EDTA de 40.0 mM la separación analítica es afectada considerablemente (Figura 16f) modificando la separación de Pb(II) y Cu(II), disminuyendo su resolución, solapando las señales de los iones. Debido a ello se selecciona una concentración de EDTA de 20.0 mM como óptima para el análisis de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en residuos de disparo de arma de fuego.

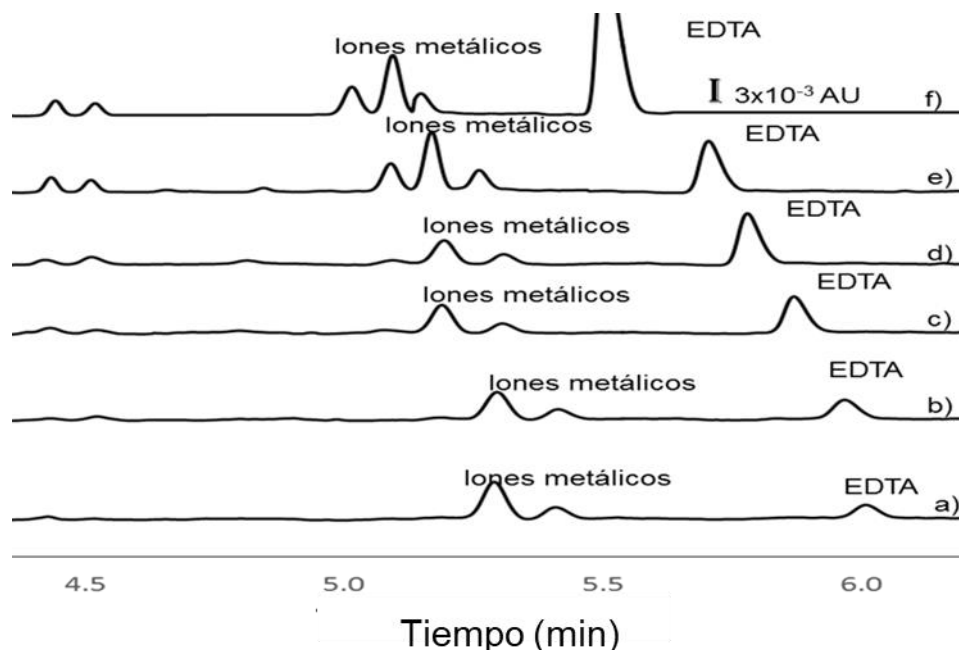


Figura 16. Electroferogramas correspondientes a la evaluación de cantidad del complejante. a) 2.5 mM b) 5.0 mM c) 10.0 mM d) 15.0 mM e) 20.0 mM y f) 40.0 mM, con los iones Al(III), Pb(II) y Cu(II) a una concentración de 5.0 mgL^{-1} . Voltaje de separación 16.0 kV, $\lambda=215 \text{ nm}$ y $\text{pH}=9.0$.

4.12 Evaluación de estándar interno (EI)

De acuerdo a la complejidad analítica en el análisis de residuos de disparo de arma de fuego por electroforesis capilar se requiere del uso de un estándar interno con la finalidad de minimizar los errores del sistema. Para ello se utilizó una solución de 5.0 mgL^{-1} de

Al(III), Pb(II) y Cu(II) así como 10.0 mgL^{-1} de cada estándar interno para su correspondiente análisis por electroforesis capilar.

Se evaluó el uso de cobalto (Co), lantano (La), benzoato de sodio (BS) y Calcio (Ca) como estándar interno en la determinación de residuos de disparo de arma de fuego. De acuerdo a los electroferogramas obtenidos, para el análisis de Ca Figura 17a), la señal analítica presenta baja sensibilidad analítica en el sistema con una menor área de integración respecto las señales analíticas de los analitos de interés. .

La Figura 17b) muestra el electroferograma obtenido en el análisis de La, sin embargo y en base a la bibliografía el lantano dependiendo el tipo de munición, este se puede encontrar como uno de los componentes (Acuña, 2019). Adicionalmente el segundo inconveniente en el uso de La es su baja sensibilidad analítica en la determinación de los tres analitos de interés en simultaneo, siendo tan baja que incluso se podía denominar como ruido.

Mientras que para el análisis de cuando se utiliza cobalto como estándar interno, Figura 17c) la señal posee una movilidad electroforética similar al aluminio y plomo afectando considerablemente la resolución de las mismas, traslapando las señales de interés.

En este sentido y como alternativa para la evaluación de un estándar interno se planteó el uso de benzoato de sodio Figura 17d) a pesar de no ser un ion metálico, este compuesto es diferente químicamente a los analitos y su incorporación no interfiere en el análisis, por lo que permite la minimización de los errores del sistema analítico que se pudiesen presentar durante los análisis.

A pesar de la definición tradicional acerca de que es un estándar interno y conforme a los resultados obtenidos es visible que en el análisis con benzoato de sodio, las señales analíticas tienen una mejor resolución y no hay afectación en tiempos de migración de los analitos, por lo que no entorpece la separación y determinación de los mismos. Es por ello que se selecciona como estándar interno la solución de benzoato de sodio con una concentración de 5 mgL^{-1}

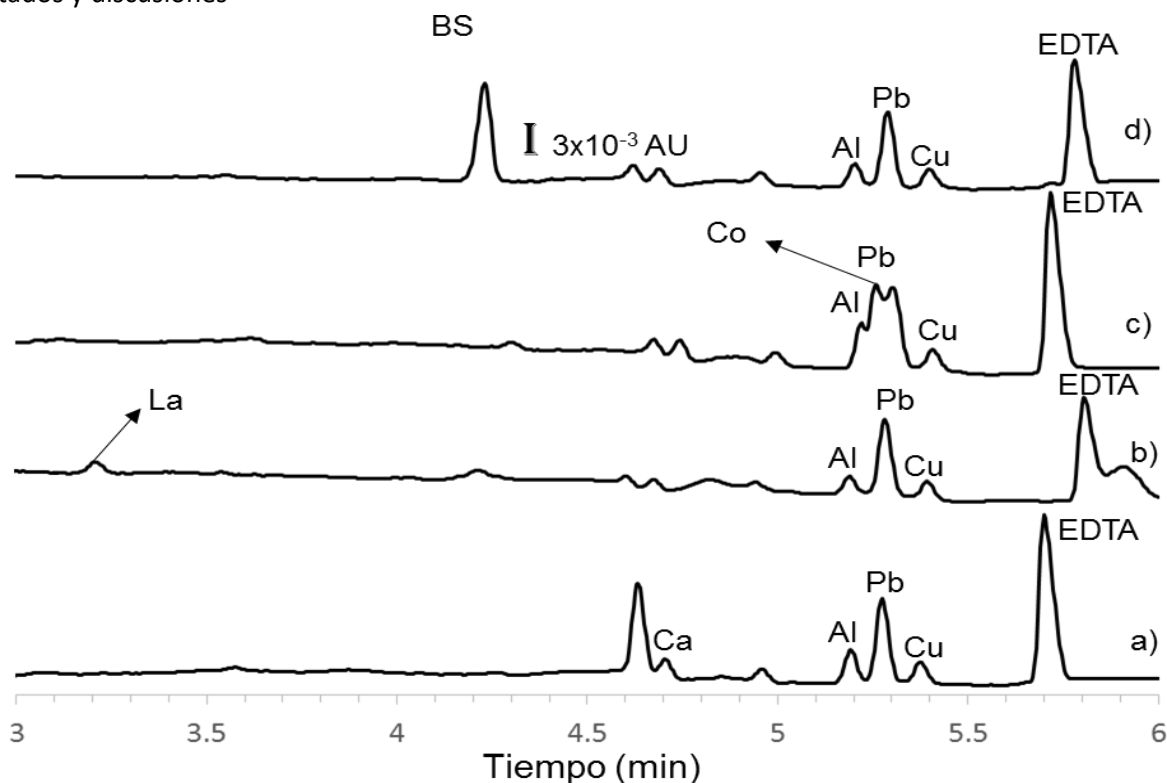


Figura 17. Evaluación del estándar interno con los iones Al(III), Pb(II) y Cu(II) a una concentración de 5.0 mgL^{-1} . Analizados a 16.0 kV , $\lambda=215 \text{ nm}$ y un $\text{pH}=9.0$.

4.1.3. Voltaje de separación

El voltaje que se aplica durante la separación influye directamente en el tiempo de migración de los analitos, además de la carga que estos posean. Para seleccionar el voltaje óptimo, se preparó una solución estándar de los iones metálicos a una concentración de 5.0 mgL^{-1} y se evaluaron voltajes de un intervalo de 8.0 kV a 18.0 kV con 2 unidades de variación.

Acorde a los resultados obtenidos, se observan dos comportamientos en el tiempo de migración de los analitos, a voltajes menores, la resolución de las señales analíticas de los iones metálicos es baja aumentando el tiempo de migración de los analitos, en cambio, a medida que incrementa el voltaje de separación, los tiempos de migración disminuyen considerablemente permitiendo a su vez mejorar la resolución analítica.

En el electroferograma de la Figura 18 se observa que a un voltaje de 8.0 kV (Figura 18a) el análisis de los analitos de interés, la separación analítica es completamente nula observando una ausencia de señales analíticas en el electroferograma. Con voltajes de 10.0 (Figura 18b) y 12.0 kV (Figura 18c) la presencia de los iones metálicos son visibles, logrando observar tres señales correspondientes a Al(III), Pb(II) y Cu(II) junto con el EDTA

Resultados y discusiones

en exceso utilizado durante el sistema complejométrico. En la Figura 18 d) se aprecia que al incrementar el voltaje en la separación a 16.0 kV el tiempo de migración se reduce permitiendo análisis por muestra de 6 minutos, sin afectar la resolución de los analitos de interés.

Por otro lado a valores de 18.0 kV (Figura 18e) la separación electroforética es afectada considerablemente aumentando la velocidad de migración del EDTA traslapando la señal del Cu(II) y Pb(II). Por consiguiente, se seleccionó como voltaje óptimo el de 16.0 kV, puesto que para las señales no hay traslapes y su resolución es adecuada, en el menor tiempo de análisis.

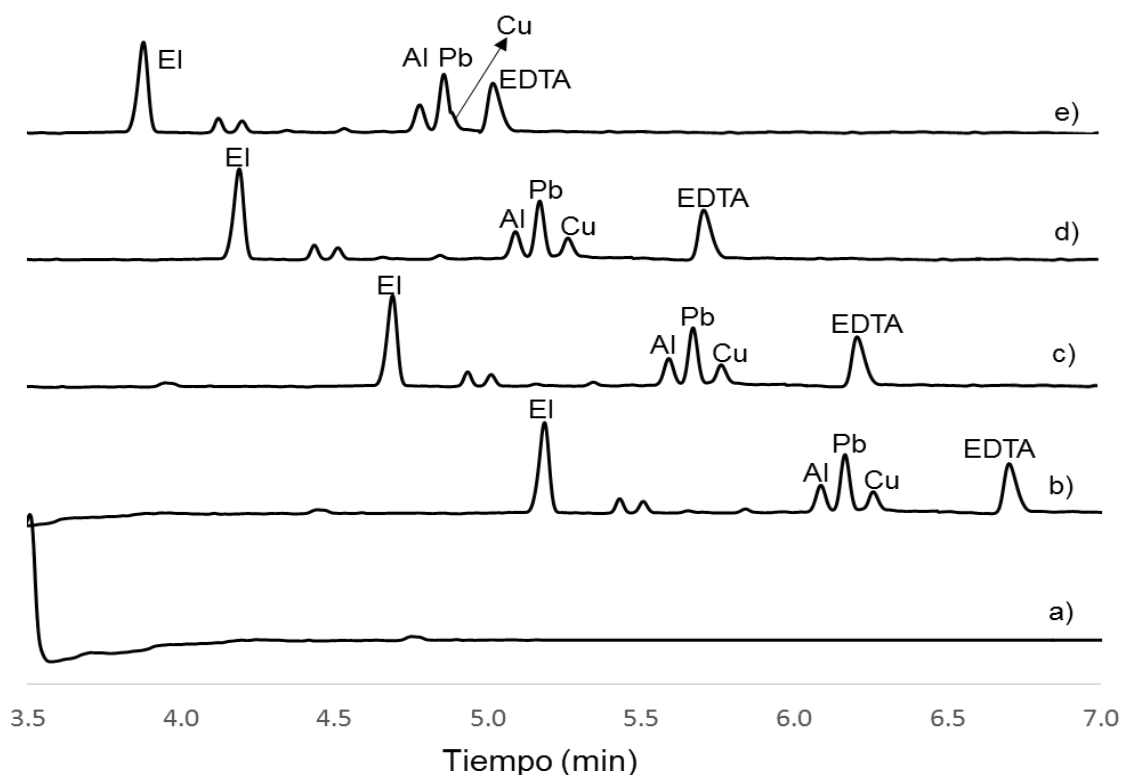


Figura 18. Evaluación del voltaje de separación de Al(III), Pb(II) y Cu(II); 5.0 mgL⁻¹, estándar interno; 500.0 µgL⁻¹.

En base a los datos obtenidos, se establecieron como condiciones óptimas para la separación de los iones Al(III), Pb(II) y Cu(II) mediante electroforesis capilar el uso del complejante EDTA a una concentración de 20.0 mM, con bezoato de sodio a una concentración de 500.0 µgL⁻¹ como estándar interno a un voltaje de separación de 16.0 kV. A estas condiciones se garantiza la mejor resolución analítica de iones, en el menor tiempo posible.

4.2 Síntesis del amino adsorbente

4.2.1 Efecto de la composición y del pH del sólido funcionalizado

- **Composición**

Con la finalidad de evaluar la composición del sólido funcionalizado, se sintetizaron seis sólidos variando la relación molar del monómero funcional (APTMS) y el agente entrecruzante (TMOS) según los siguientes ratios: 5.0:0.0, 4.0:1.0, 3.0:2.0, 2.0:3.0, 1.0:4.0, 0.0:5.0 (TMOS:APTMS). Posteriormente los sólidos fueron puestos en contacto con una solución que contenía los iones de interés.

Todos los experimentos se realizaron usando 1.0 mL de una solución estándar a una concentración de 5.0 mgL⁻¹ de sales de Al(III), Pb(II) y Cu(II) empleando 10.0 mg del adsorbente y 5.0 min como tiempo de contacto. Completado el proceso de extracción los iones metálicos remanentes en solución fueron analizados mediante electroforesis capilar. Los porcentajes de retención se calcularon en función de la concentración inicial y la concentración encontrada después del proceso de extracción. La tabla 4 muestra los % de retención obtenidos en cada experimento.

Acorde a los datos obtenidos se puede apreciar en la mayoría de los casos, que conforme la proporción de APTMS incrementa de (4.0:1.0 a 2.0:3.0), el % de retención incrementa aunque, si la proporción del monómero funcional incrementa a valores de 1.0:4.0 y 0.0:5.0 (TMOS APTMS), el proceso de síntesis es afectado considerablemente no logrando la obtención del sólido.

Tabla 4. Porcentaje de retención conforme la composición del sólido adsorbente y el pH en la solución.

TMOS:APTMS		pH			
		2.0	4.0	6.0	8.0
(5.0:0.0)	Al(III)	0.00	36.35	56.17	0.00
	Pb(II)	0.00	6.55	31.28	0.00
	Cu(II)	0.00	0.00	3.57	0.00
(4.0:1.0)	Al(III)	23.55	31.18	40.79	71.36
	Pb(II)	1.75	47.16	77.82	98.80
	Cu(II)	1.69	58.32	69.79	80.76
(3.0:2.0)	Al(III)	56.65	98.80	98.80	98.80
	Pb(II)	10.69	49.93	98.80	98.80
	Cu(II)	2.60	47.38	98.80	98.80
(2.0:3.0)	Al(III)	100.00	98.80	98.80	98.80
	Pb(II)	17.02	98.80	98.80	98.80
	Cu(II)	4.61	98.80	98.80	98.80
(1.0:4.0)	NR	-	-	-	-
(0.0:5.0)	NR	-	-	-	-

El efecto del pH en el proceso de extracción es un factor crítico durante el aislamiento de diversos analitos de interés presentes en muestras de matrices complejas. La presencia de hidroxocomplejos en el análisis de iones metálicos está directamente relacionada con la concentración de protones en solución. Para conocer el valor óptimo de pH se pusieron los sólidos sintetizados con una solución que contenía Al(III), Pb(II) y Cu(II) usando 1.0 mL de solución estándar a una concentración de 5.0 mgL⁻¹ de Al(III), Pb(II) y Cu(II) empleando 10.0 mg del adsorbente y 5.0 min como tiempo de contacto.

Los experimentos fueron realizados en un intervalo de pH de 2.0 a 8.0 con dos unidades de variación, con la finalidad de evaluar el efecto de tener a los iones libres, mientras que a pH básicos en su estado hidroxilado permitiendo determinar las condiciones óptimas con la máxima retención analítica de cada uno de los iones de interés.

Completado el proceso de extracción los iones metálicos remanentes en solución fueron analizados mediante electroforesis capilar. Los porcentajes de retención se calcularon en función de la concentración inicial y la concentración encontrada después del proceso de extracción. La Tabla 4 muestra los % de retención obtenidos en cada experimento.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el % de retención incrementa proporcionalmente de 50.0-98.8 % cuando se tienen valores de pH de 4.0 a 8.0, caso contrario cuando se tiene valores de pH de 2.0 a 4.0 la retención analítica se ve afectada considerablemente de 10.0 a 35.0%, a valores de pH ácidos el % de retención disminuye debido a la protonación de los grupos R-NH₂ y R-OH presentes en la superficie del sólido causando una repulsión electrostática con los iones metálicos (Shafqat, et al. 2019). Mientras que a pH entre 6.0 y 8.0 se obtienen mejores % de retención para todos los iones metálicos, indicando que se favorece el modo de interacción, sin embargo a con un valor de pH de 8.0 el % de retención se debe más al efecto de la precipitación de algunos de los iones de interés (Guibal, 2004).

Por ello y con la finalidad de minimizar el pre-tratamiento de la muestra se selecciona un valor de pH óptimo de 6.0 con una composición de 3.0:2.0 (TMOS: APTMS) ya que con estos valores se alcanzan valores de % retención de 98.8%.

4.3 Caracterización del adsorbente

- **Infrarrojo**

La Figura 19 muestra los espectros FT-IR del agente entrecruzante (TMOS) y el monómero funcional (APTMS) previo al método de síntesis, así como el sólido sintetizado mostrado en la Figura 19 demuestra la presencia de grupos silanol y en especial de grupos amino.

En los tres espectros FT-IR se pueden observar que comparten bandas de absorción en longitudes de onda de 3000-2800 cm⁻¹ correspondientes a los enlaces C-H. La banda de absorción a 3400 cm⁻¹ es propia de las vibraciones de los enlaces tipo N-H₂, mismos que están presentes en los espectros del APTMS y el sílice modificado sintetizado. A longitudes de onda de entre 1200-1000 cm⁻¹ hay presencia de señales de diferentes grupos funcionales. El enlace C-O está en a una longitud de onda de 1100 cm⁻¹ mientras que cerca de esta longitud, a 1000 cm⁻¹ y 800 cm⁻¹ se encuentran las vibraciones de los enlaces Si-O. La longitud de onda de 800 cm⁻¹ en la Figura 19 muestra un mayor tamaño para los espectros FT-IR del APTMS y TMOS, mientras que para el del sólido sintetizado su tamaño es menor, esto indica que la polimerización se ha llevado a cabo (Shafqat, et al 2019).

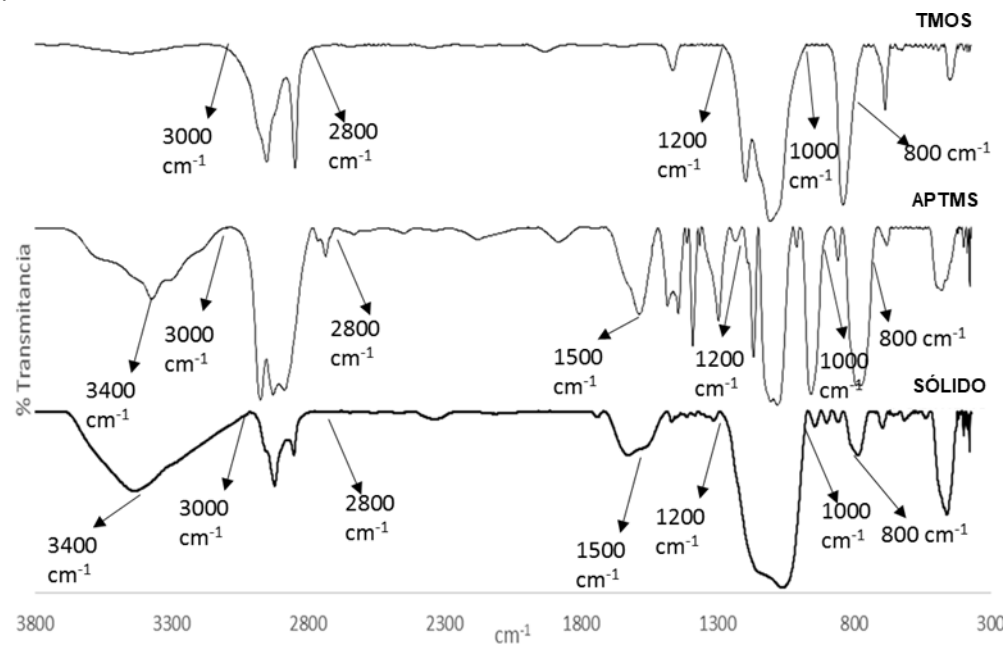


Figura 19. Espectros de infrarrojo correspondiente al entrecruzante (TMOS), monómero funcional (APTMS) y sólido funcionalizado (TMOS-APTMS).

- **Microscopía electrónica de barrido**

La morfología del sólido sintetizado fue analizada mediante espectroscopía electrónica de barrido (SEM). En base a la microfotografías obtenidas (Figura 20) se puede apreciar que la composición del sólido sintetizado presenta características esféricas obtenidas por la adición de los surfactantes durante el sistema de reacción (Medina et al, 2007), de textura rugosa, cuyas partículas presentan una aglomeración demasiado estrecha. Por otra parte se observa que las partículas formadas tienen un diámetro de entre 540 y 730 nm.

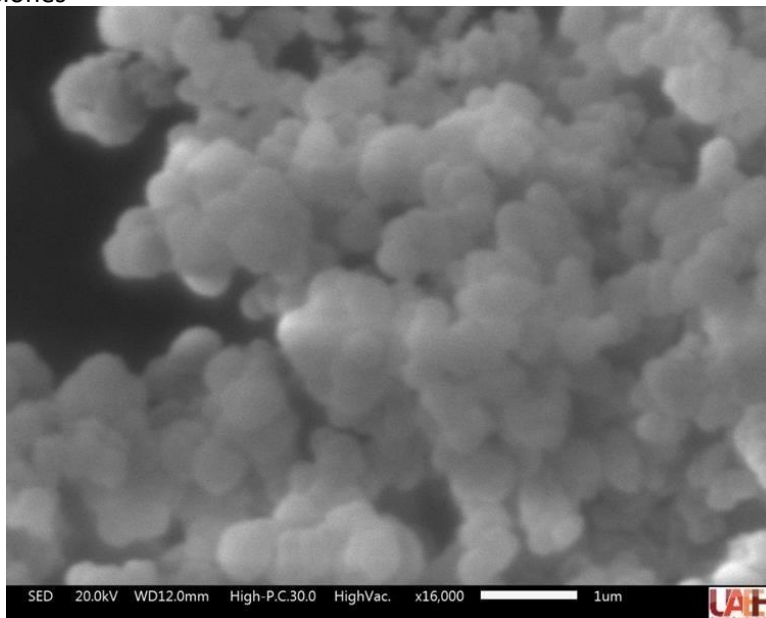


Figura 20. Microfotografía en el análisis del sólido funcionalizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

- **Análisis Termogravimétrico**

Para determinar la estabilidad térmica de los grupos amino y silanol presentes en la superficie del sólido se realizó un análisis termogravimétrico. Conforme los resultados obtenidos (Figura 21) se pueden apreciar tres descomposiciones significativas. La primera de ellas ocurre en un intervalo de temperatura de 60-120°C corresponde a la pérdida de agua adsorbida del medio por el sólido (Kao et. al., 2008). Una segunda descomposición entre 160-310°C presenta el desprendimiento de los grupos aminopropil. Por último la producción de amonio, agua y etileno a temperaturas por encima de 310°C (Shafqat, et al 2019).

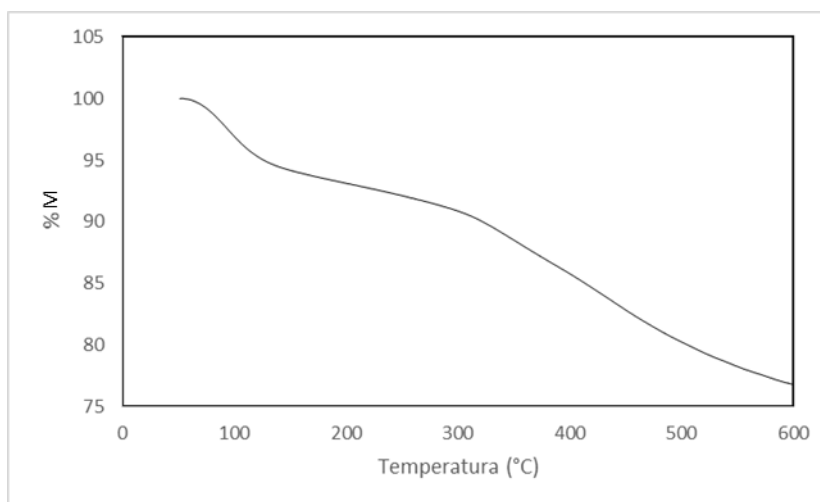


Figura 21. Análisis termogravimétrico (TGA).

- **Isoterma de adsorción**

La capacidad de adsorción y la afinidad del amino adsorbente por los iones metálicos de Al(III), Pb(II) y Cu(II) se analizaron mediante la construcción de una isoterma de adsorción y su correspondiente análisis Scatchard (Tabla 5). Cada una de las isotermas se construyen determinando la concentración remanente (mM) para cada ion metálico obtenidas después de la dispersión de 20.0 mg de adsorbente en 5.0 ml de una solución estándar en intervalos de concentración de 0.006 a 0.90 mM. La cantidad de Al(III), Pb(II) y Cu(II) enlazados al adsorbente en el equilibrio incrementa hasta una concentración de 0.6 mM.

De acuerdo al análisis Scatchard, la cantidad de iones enlazados al adsorbente se obtiene restando la concentración libre de la concentración inicial de cada ion. El análisis Scatchard fue obtenido de acuerdo a la siguiente ecuación: $Q [M^{n+}] = (Q_{max}-Q) / K_d$, donde Q (mmol g^{-1}) es la cantidad de Al(III), Pb(II) y Cu(II) enlazados sobre el adsorbente en el equilibrio, $[M^{n+}]$ (mM y μM) es la concentración de iones metálicos libre al equilibrio, K_d es descrita como la constante de disociación (la afinidad del adsorbente por las iones), y Q_{max} (mmol g^{-1}) es la cantidad máxima de sitios activos (Suen, 1997).

Las ecuaciones lineales, los valores de K_d y Q_{max} corresponden a una afinidad de fuerza media entre el adsorbente y los iones de Al(III), Pb(II) y Cu(II), por lo que resulta ser adecuado en el proceso de elución. Conforme al análisis de los datos (ecuación lineal), el adsorbente posee sitios activos homogéneos, demostrando ser una técnica útil en la adsorción selectiva de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en muestras reales.

Tabla 5. Isotherma de adsorción (Análisis de Scatchard).

$[M^{n+}]$	Ecuación	Coefficiente de determinación r^2	Kd	Qmax
Al(III)	$1.0070 \pm 0.0031 - 0.0142 \pm 0.0014 Q$	0.9734	70.42 ± 6.94 (mM)	70.91 ± 6.99 (mmol g ⁻¹)
Pb(II)	$1.0213 \pm 0.0137 - 3.4504 \pm 0.2731 Q$	0.9815	289.00 ± 22.87 (μ M)	295.99 ± 23.76 (μ mol g ⁻¹)
Cu(II)	$1.0081 \pm 0.0018 - 0.0546 \pm 0.0040 Q$	0.9838	18.31 ± 1.34 (mM)	18.46 ± 1.35 (mmol g ⁻¹)

4.4 Evaluación de las condiciones de extracción por DSPE

4.4.1. Cantidad de Adsorbente

Para evaluar el efecto de la cantidad de adsorbente en la retención analítica, se evaluaron diferentes cantidades de sólido durante el proceso de extracción, por lo cual, en distintos tubos de polipropileno se colocaron cantidades de 5.0 a 50.0 mg del adsorbente en contacto con una solución estándar de los analitos de interés a una concentración de 5.0 mgL⁻¹, en dispersión por 5.0 minutos. Concluido el proceso de extracción se analizaron los remanentes de dichas soluciones. De acuerdo a los resultados obtenidos (Figura 22) se puede observar que conforme se tiene una mayor cantidad de adsorbente incrementa el % de retención para Pb(II) y Cu(II) hasta en un 98.8% de todos los analitos de interés, sin embargo a cantidades superiores a 20.0 mg, se observa una disminución en el % de retención de hasta un 12.0 % cuando se tiene una cantidad de 50.0 mg, este efecto puede ser debido a que entre mayor es la cantidad de sólido el efecto de dispersión disminuye afectando la interacción analito-adsorbente y por tanto la retención analítica (Soylak, et al. 2001). Conforme a los resultados obtenidos se selecciona una cantidad de 10 mg de adsorbente como óptimo permitiendo mayor número de análisis con la menor cantidad de adsorbente, con % de retención de 98.8% con una %DER menos al 10.0%.

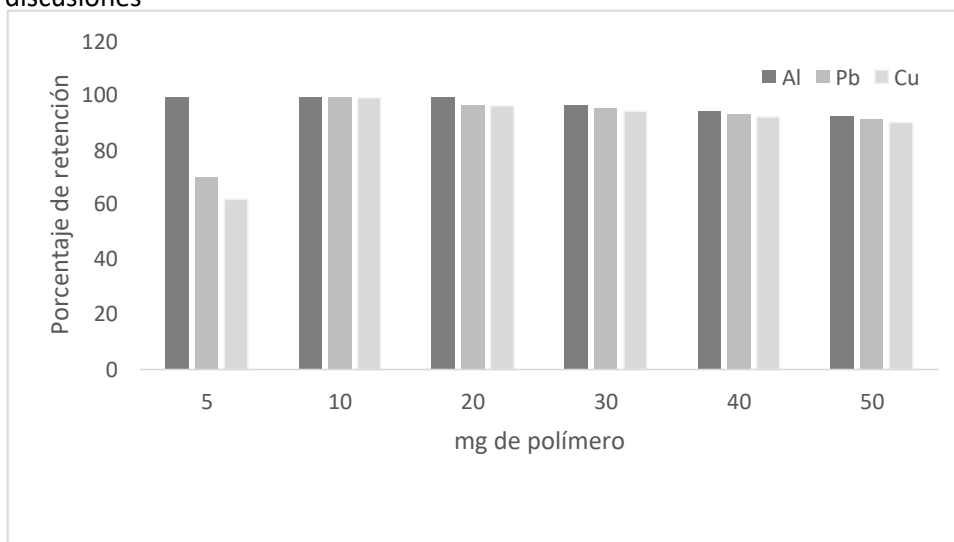


Figura 22. Efecto de la cantidad de adsorbente en la retención analítica de Al(III), Pb(II) y Cu(II).

4.4.2. Tiempo de contacto

La adsorción de los iones metálicos en la superficie del sólido adsorbente es vinculado en función del tiempo de contacto, para ello se evaluó intervalos de tiempo de 2.5 a 30.0 min de dispersión. Los experimentos se realizaron usando 1.0 mL de solución estándar a una concentración de 5.0 mgL^{-1} de cada ion metálico y 10.0 mg del adsorbente. Concluido el tiempo de extracción la concentración remanente de los iones metálicos se analizó mediante CE. En base a los resultados obtenidos, tal y como se muestra en la Figura 23, el tiempo de dispersión es proporcional al porcentaje de retención, permitiendo una mayor interacción entre el adsorbente y los analitos asegurando una máxima retención en el sistema (Li, et al 2014). Es así que, a tiempos de 2.5 y 5.0 min la retención analítica se encuentra por debajo del 45.0% para los iones de Pb(II) y Cu(II), mientras que con un tiempo de contacto de 10.0 y 20.0 min los % de retención se incrementan considerablemente de hasta casi un 100%. Sin embargo, a tiempos mayores a 20.0 min, el % de retención disminuye un 10% por efecto de saturación y/o elución de los analitos (Özçimen y Salan, 2016). Por lo que se seleccionó un tiempo de 10 min como tiempo óptimo para el proceso de extracción ya que tiene un porcentaje de retención de todos los analitos del 98.8%.

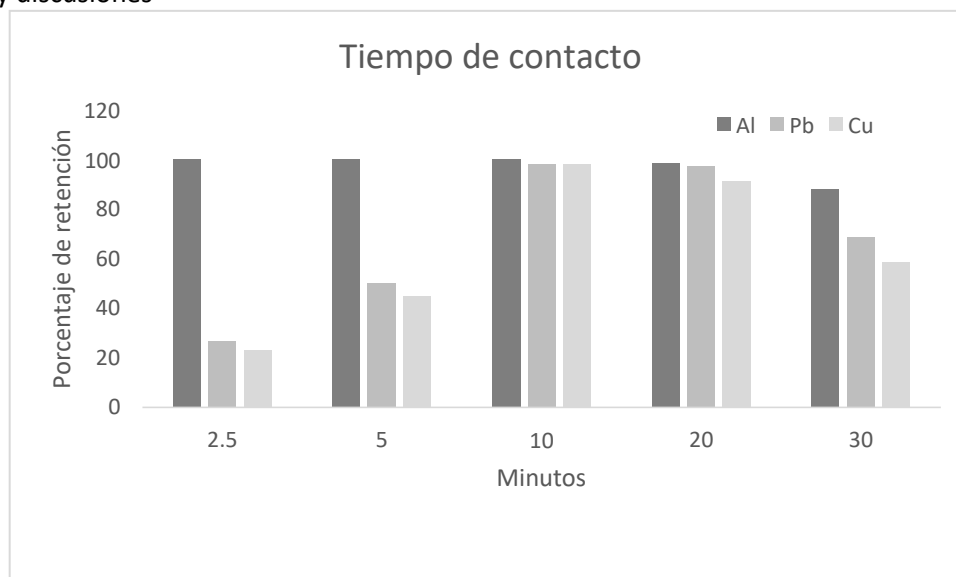


Figura 23. Efecto del tiempo de contacto en la retención de Al(III), Pb(II) y Cu(II).

4.4.3. Volumen de muestra

Para conocer el efecto del volumen de muestra con el adsorbente en el sistema de dispersión permitiendo una mayor interacción con los analitos de interés, se estudió un intervalo de volúmenes de 1.0-50.0 mL. Normalmente a volúmenes mayores se pueden obtener límites de detección bajos, no obstante conforme a la metodología propuesta esta condición no se presenta, sin en cambio la interacción analito-adsorbente puede mejorar, basados en los resultados obtenidos como se muestra en la Figura 24 el volumen de 5.0 mL alcanza porcentajes de retención superiores a los que se tienen con volúmenes mayores y menores a 5.0 mL. A volúmenes por encima de 5.0 mL los porcentajes de retención se ven mermados por una deficiente interacción entre la superficie del polímero con la solución muestra, confirmado a su vez que los porcentajes de retención (50.0-98.8%) son similares para los volúmenes estudiados. Por otra parte, 1.0 mL de volumen para el proceso de extracción, no es suficiente para tener % de retención elevados, puesto que la interacción adsorbente analitos se ve disminuida. Entonces a partir de la necesidad de tener un volumen de solución con porcentajes de retención altos se seleccionó 5.0 mL como óptimo.

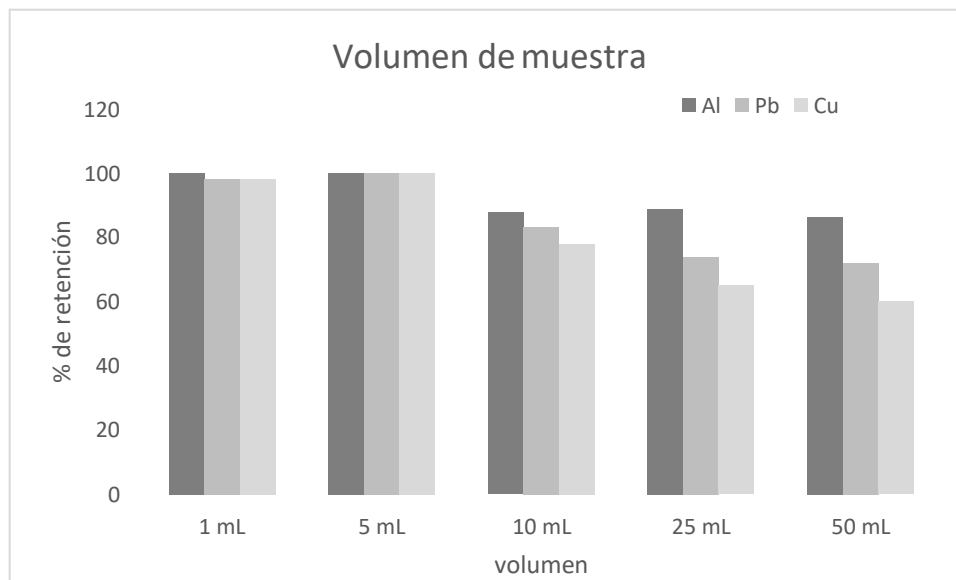


Figura 24. Efecto del volumen de muestra.

4.4.4. Elución de muestra

La elución analítica de los iones se evaluó en una solución metanólica con diferentes concentraciones de ácido nítrico, para permitir la obtención de cargas positivas en el sólido adsorbente generando una repulsión electrostática adsorbente-analitos contribuyendo a su elución. Para ello se estudiaron 5 diferentes soluciones (Metanol, HNO_3 1×10^{-2} M y metanol- HNO_3 : 1×10^{-3} M, 1×10^{-2} , 1×10^{-1} M).

Concluido el proceso de extracción donde se ocuparon soluciones patrón a una concentración conocida de los analitos (5.0 mgL^{-1}), el adsorbente se lavó en tres ocasiones con 5.0 ml de agua desionizada, posteriormente se adicionó 10.0 ml del eluyente manteniéndose en agitación durante 5.0 min, concluido el tiempo de dispersión la solución metanólica se evaporó a sequedad y reconstituyó con 1.0 mL de la solución electrolítica. Conforme a los resultados obtenidos en términos de % elución (Figura 25), se observa que la solución metanólica no permite la elución de los analitos de interés, mientras que, para las soluciones acidificadas, se aprecia que entre mayor es la concentración del HNO_3 existe un incremento en los % de elución. Con las soluciones metanólicas acidificadas de molaridad 1×10^{-3} M y 1×10^{-2} M hay porcentajes de elución menores al 50.0 %, mientras que para la solución acidificada no metanólica, van de 13.0 a 80.0 %, sin embargo los tiempos para evaporar este tipo de solución son más extensos a las metanólicas. En consecuencia y basado en los resultados, la concentración de HNO_3 en metanol con mayor porcentaje de elución de hasta un 90.0 % se tiene a una concentración de 1×10^{-1} M por lo que se seleccionó como óptima.

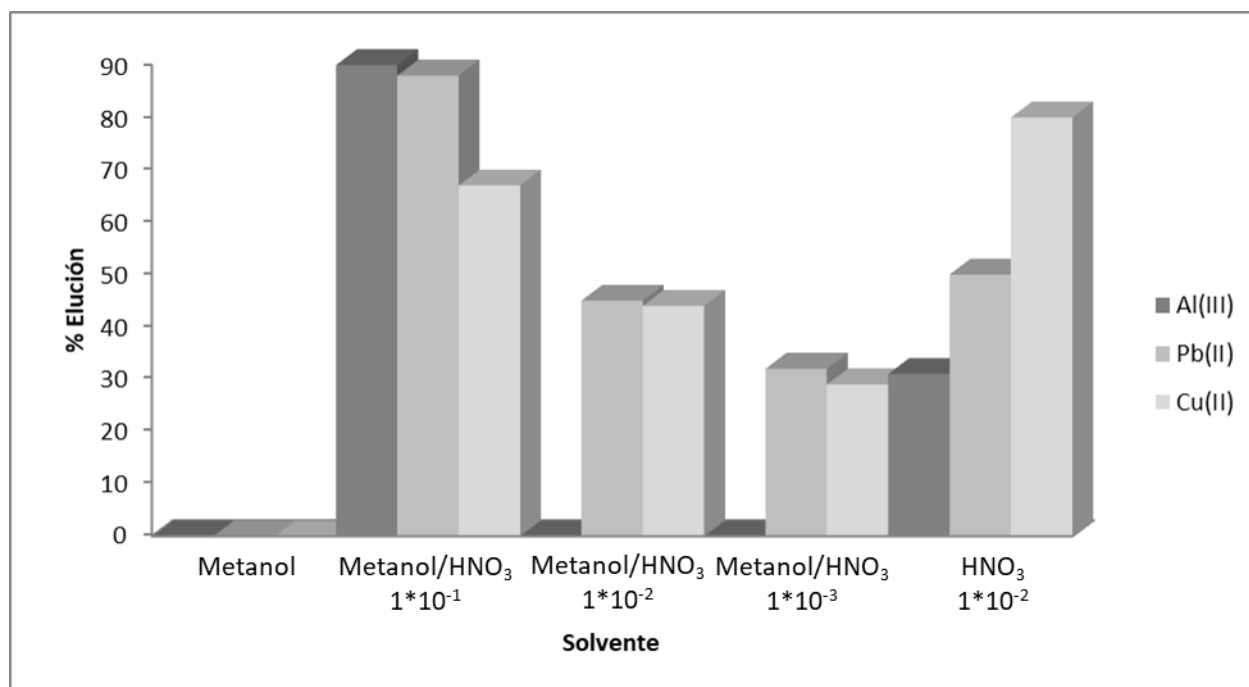


Figura 25. Efecto de la concentración de HNO₃ en metanol en el proceso de elución.

4.4.5. Parámetros analíticos

De acuerdo a las condiciones óptimas se evaluaron los parámetros analíticos en un intervalo lineal de 0.0 a 2.0 mgL⁻¹. Cada uno de los estándares fue preparado por triplicado analizado conforme la metodología propuesta. Mediante las alturas de los picos se construyó curva de calibrado, observándose una dependencia lineal entre la altura de los picos y la concentración de cada uno de los iones metálicos de interés. Conforme a los resultados obtenidos en la Tabla 6, se tiene un coeficiente de correlación de hasta un 0.9976 correspondiente a Pb(II), 0.9962 para Cu(II), y 0.9934 para Al(III). Los límites de detección (LODs) de la metodología DSPE-CE fueron evaluados en un intervalo de concentración de 0.0-2.0 µg L⁻¹. Los LODs fueron calculados conforme a la relación señal/ruido S/N=3.29 (criterios de la IUPAC, Currie, L. A. 1997). Los límites de detección para Pb(II) es 0.06mgL⁻¹, seguido de 0.08 mgL⁻¹ correspondiente a Cu(II) y 0.11 µgL⁻¹ para Al(III).

Para determinar la exactitud del método se realizaron experimentos con soluciones blanco a dos niveles de concentración con tres repeticiones para cada nivel (200.0 y 700.0 µgL⁻¹). Las relaciones de áreas cuentan con una desviación estándar relativa menor al 10.0% en todos los casos.

Tabla 6. Parámetros de regresión de la curva de calibrado

Analito	Parámetros de Regresión		
	Ordenada $b0 \pm ts$ (b0)	Pendiente $b1 \pm ts$ (b1)	Coefficiente de correlación, r^2
Al(III)	-0.0018 ± 0.0048	0.2550 ± 0.0104	0.9934
Pb(II)	0.0045 ± 0.0040	0.3513 ± 0.0085	0.9976
Cu(II)	0.0004 ± 0.0012	0.0823 ± 0.0025	0.9962

	Límite de detección (mgL^{-1})	Límite de cuantificación (mgL^{-1})	Intervalo lineal (mgL^{-1})
Al(III)	0.11	0.33	0.33-2.0
Pb(II)	0.06	0.18	0.18-2.0
Cu(II)	0.08	0.24	0.24-2.0

	Repetitividad (%RSD, n=3)		Reproducibilidad (%RSD, n=3)	
	0.2 mgL^{-1}	0.7 mgL^{-1}	0.2 mgL^{-1}	0.7 mgL^{-1}
Al(III)	0.33	8.38	2.43	7.73
Pb(II)	7.25	7.33	1.59	7.30
Cu(II)	3.5	4.59	1.57	8.35

4.5. Aplicación del método

Conforme las condiciones óptimas, el método propuesto se aplicó en el análisis de residuos de disparo de arma de fuego en 9 muestras (tiradores) antes y después de haber realizado un disparo de arma de fuego, para ello se determinó la presencia de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en la zona palmar y dorsal de cada tirador, las concentraciones de cada una de las señales analíticas se calcularon por medio de interpolación en la curva de calibrado del sistema DSPE-CE.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 7, como se puede observar, la zona dorsal de la mano presenta mayor concentración de los iones de interés (residuos de

disparo de arma de fuego), siendo el ion Al(III) se encuentra en mayor concentración respecto a los demás iones con concentraciones de hasta 702.0 mgL⁻¹. Mientras que la presencia de Pb(II) resulta muy evidente concentraciones entre 11.8 y 280.0 mgL⁻¹, donde a pesar de que la concentración no sea tan elevada como la observada en Al(III), este ión se determina en un mayor proporción ya que este se encuentra de forma habitual como parte de la munición. Mientras que en el caso del ion Cu(II), está se encuentra de igual manera que el Pb(II) se presenta en la mayoría de los tiradores, con concentraciones encontradas de 29.8 hasta una concentración máxima de 395.6 mgL⁻¹.

Por otro lado, la zona palmar se presenta en menor medida por la baja impregnación de la nube de gases, provocada por la deflagración de un arma de fuego y esto se ve reflejado en que para esta área es poca la concentración de los iones metálicos incluso siendo nula su aparición. Mientras que en la zona dorsal se observa que el modo de impregnación de la nube de gases se ve en mayor cantidad, esto debido a que la posición de la mano permite que al generarse la nube esta recubre dicha zona con mayor facilidad en comparación que la zona palmar. De forma adicional, las diferencias encontradas en términos de concentración son debidas principalmente al modo de manipulación que un individuo tiene con respecto a otro.

Tabla 7. Contenido de Al(III), Pb(II) y Cu(II) en mgL⁻¹ en muestras reales de disparo de arma de fuego.

Disparador	Al(III)		Pb(II)		Cu(II)	
	Dorso	palma	Dorso	Palma	Dorso	Palma
1	12.6	<LOD	122.8	37.2	154.8	212.6
2	128.4	<LOD	183.8	<LOD	60.8	<LOD
3	480.0	<LOD	125.4	<LOD	43.6	<LOD
4	702.0	<LOD	189.6	<LOD	395.6	<LOD
5	143.0	<LOD	280.0	70.0	141.2	<LOD
6	76.6	92.0	78.4	<LOD	<LOD	<LOD
7	<LOD	<LOD	<LOD	11.8	41.4	29.8
8	<LOD	<LOD	26.2	<LOD	181.0	<LOD
9	<LOD	<LOD	33.4	15.4	67.6	90.0
BCO1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BCO2	68.8	71.2	223.0	67.4	88.8	90.2

La Figura 26, muestra los electroferogramas obtenidos en el análisis de una muestra control o muestra blanco obtenida de la zona palmar y dorsal de un tirador previo a la realización de un disparo de arma de fuego (Figura 26a), mientras que la Figura 26b muestra un electroferograma obtenido en el dopaje de una muestra control con una concentración de los iones con 5 mgL^{-1} , así como una muestra posterior a la realización de un disparo de arma de fuego (Figura 26c), donde se puede observar que más allá de los iones de interés se presentan señales adicionales, por una posible complejación de iones adicionales con características similares (números de oxidación), sin interferir en el análisis de Al(III), Pb(II) y Cu(II).

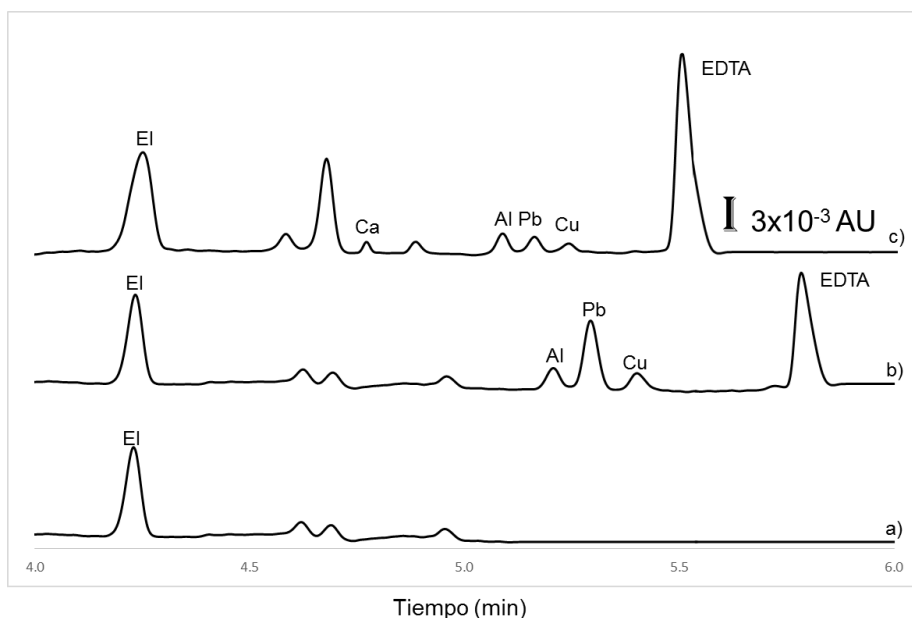


Figura 26. Comparación de electroferogramas. a) Muestra Control (Muestra blanco); E.I a $500.0 \mu\text{L}^{-1}$, b) Muestra patrón con E.I, Al(III), Pb(II), Cu(II) a 5.0 mgL^{-1} , c) Electroferograma de muestra real y E.I a $500.0 \mu\text{L}^{-1}$.

Conforme a los resultados obtenidos, el presente método posee una buena sensibilidad y selectividad analítica en la determinación de multianálito de iones presentes en residuos de disparo de arma de fuego en concentraciones traza con la ventaja adicional al momento de contrastar el costo y tiempos de análisis frente a otras metodologías convencionales.



Conclusiones

5. Conclusiones

- ❖ Las condiciones de separación que se utilizaron fue una $\lambda=215$ nm, un voltaje de 16 kV y un pH=9.0 como condiciones óptimas para la separación de los iones Al(III), Pb(II) y Cu(II) en electroforesis capilar, teniendo como electrolito soporte una solución de tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 20 mM y la sal disódica EDTA 2mM.
- ❖ La optimización del sistema complejométrico (M^{n+} -EDTA) permitió obtener una adecuada complejación de los iones, así como una separación e identificación de los iones de interés mediante electroforesis capilar, encontrando una concentración de 20.0 mM de EDTA como necesaria para llevar a cabo la complejación.
- ❖ La técnica desarrollada, basada en la síntesis de un adsorbente funcionalizado con grupos amino, bajo las condiciones óptimas ha demostrado ser una técnica eficaz en la extracción de los iones metálicos Al(III), Pb(II) y Cu(II) provenientes de residuos de disparo de arma de fuego con % de retención de hasta un 98.8 % en todos los casos con %RSD menores al 10.0% en todos los casos.
- ❖ La caracterización del adsorbente confirmó la presencia de grupos NH_2 , OH^- , y grupos SiO^- presentes en la sílice. El análisis termogravimétrico demostró la estabilidad del sólido y se comprueba de igual forma los grupos funcionales mencionados anteriormente. El análisis por microscopía electrónica de barrido, mostró una superficie del sólido esférica, lo que aumenta la superficie de contacto ente los analitos y el sólido.
- ❖ Los estudios realizados para encontrar las mejores condiciones de extracción de los analitos arrojaron como mejores resultados 10.0 mg de adsorbente, un tiempo de contacto de 10.0 min, volumen de 5.0 mL y el eluyente conformado por una solución de $1 \times 10^{-1}\text{M}$ HNO_3 en metanol. En conjunto estas condiciones proveen de cortos tiempos de análisis, por lo que es mayor el número de análisis que se pueden efectuar, además de bajos costos de reactivos.

- ❖ El método planteado para la extracción de iones metálicos por CE cuenta con la ventaja sobre otras metodologías establecidas: hallar concentraciones en el orden de mgL^{-1} , tornándola en una técnica aplicable en el análisis de Al(III), Pb(II) y Cu(II) presentes en residuos producidos por la deflagración de un arma de fuego de forma confiable al momento de resolver si una persona ha disparado o no un arma de fuego. La técnica propuesta presenta una sensibilidad y precisión analítica, en su acoplamiento con electroforesis capilar permitiendo obtener límites de detección de $0.06\text{-}0.11 \text{ mgL}^{-1}$, con una repetitividad y reproducibilidad adecuadas determinadas en términos de %RSD ($<10\%$).



Bibliografía

6. Bibliografía

Ali, I., & Aboul-Enein, H. Y. (2002). Determination of metal ions in water, soil, and sediment by capillary electrophoresis. *Analytical Letters*, 35(13), 2053-2076. doi:10.1081/al-120015519

Ahmadi, M., Elmongy, H., Madrakian, T., & Abdel-Rehim, M. (2017). Nanomaterials as sorbents for sample preparation in bioanalysis: A review. *Analytica Chimica Acta*, 958, 1-21. doi:10.1016/j.aca.2016.11.062

Achterberg, E. P., Gledhill, M., & Zhu, K. (2018). Voltammetry-Cathodic Stripping. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. doi:10.1016/b978-0-12-409547-2.00553-9

Acuña, I. (2019). ¿Qué son las Tierras Raras y por qué son tan importantes en la guerra comercial? Obtenido de pisapapeles: <https://pisapapeles.net/que-son-las-tierras-raras-y-por-que-son-tan-importantes-en-la-guerra-comercial/>

Ahmadi, M., Elmongy, H., Madrakian, T., & Abdel-Rehim, M. (2017). Nanomaterials as sorbents for sample preparation in bioanalysis: A review. *Analytica Chimica Acta*, 958, 1-21. doi:10.1016/j.aca.2016.11.062

Ali, I., & Aboul-Enein, H. Y. (2002). Determination of metal ions in water, soil, and sediment by capillary electrophoresis. *Analytical Letters*, 35(13), 2053-2076. doi:10.1081/al-120015519

Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., & Cerdà, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, 641-654. doi:10.1016/j.trac.2015.08.015

Aryal, S. (2020). Online Microbiology Notes. Obtenido de <https://microbenotes.com/polyacrylamide-gel-electrophoresis-page/>

Baraj, B., Martínez, M., Sastre, A., & Aguilar, M. (1995). Simultaneous determination of Cr(III), Fe(III), Cu(II) and Pb(II) as UV-absorbing EDTA complexes by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 695(1), 103-111. doi:10.1016/0021-9673(94)01078-s

Basu, S., "Formation of Gunshot Residues," *Journal of Forensic Sciences*, Vol. 27, No. 1, 1982, pp. 72-91. doi:10.1520/JFS11453J

Bartle, K. D., & Myers, P. (2002). History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9-10), 547-557. doi:10.1016/s0165-9936(02)00806-3

Bosch Ojeda, C., & Sanchez Rojas, F. (2013). Recent applications in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2009-2011. *Microchemical Journal*, 106, 1-

Bibliografía

16. doi:10.1016/j.microc.2012.05.012

Burleson, G. L., Gonzalez, B., Simons, K., & Yu, J. C. C. (2009). Forensic analysis of a single particle of partially burnt gunpowder by solid phase micro-extraction-gas chromatography-nitrogen phosphorus detector. *Journal of Chromatography A*, 1216(22), 4679-4683. doi:10.1016/j.chroma.2009.03.074

Cárdenas, A. M. (28 de Julio de 2018). El problema del arma de fuego en el tipo penal de tenencia y porte. Proyecto de Investigación. Quito.

Cervantes, J. I. (Noviembre de 2013). Aplicación de la espectrofotometría de absorción atómica en el laboratorio de química forense. Tesina. México, D.F, México.

Colmenero Gil del Valle, J. (03 de Diciembre de 2015). Concepto de armas de fuego y balística. Obtenido de <https://riuma.uma.es/xmlui/handle/10630/9439>

Currie L.A., *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 37 (1997) 151-181

Dalby, O., Butler, D., & Birkett, J. W. (2010). Analysis of Gunshot Residue and Associated Materials-A Review. *Journal of Forensic Sciences*, 55(4), 924-943. doi:10.1111/j.1556-4029.2010.01370.x

De Castro Vasconcellos, P., da Rocha, G. O., Caramão, E. B., Machado, M. E., & Krause, L. C. (2015). Chromatographic Techniques for Organic Analytes. Monitoring of Air Pollutants - Sampling, Sample Preparation and Analytical Techniques, 267- 309. doi:10.1016/bs.coac.2015.09.009

Ditrich, H. (2012). Distribution of gunshot residues - The influence of weapon type. *Forensic Science International*, 220(1-3), 85-90. doi:10.1016/j.forsciint.2012.01.034

Dockery, C. R., & Goode, S. R. (2003). Laser-induced breakdown spectroscopy for the detection of gunshot residues on the hands of a shooter. *Applied Optics*, 42(30), 6153. doi:10.1364/ao.42.006153

Fabbrizzi, L., & Poggi, A. (2013). Anion recognition by coordinative interactions: metal-amine complexes as receptors. *Chemical Society Reviews*, 42(4), 1681- 1699. doi:10.1039/c2cs35290g

Gassner, A.-L., Ribeiro, C., Kobylinska, J., Zeichner, A., & Weyermann, C. (2016). Organic gunshot residues: Observations about sampling and transfer mechanisms. *Forensic Science International*, 266, 369-378. doi:10.1016/j.forsciint.2016.06.029

Giannelli, P. C., "Gunshot Residue Tests" (1991). Faculty Publications. 335.

Guibal, E. (2004). Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. *Separation and Purification Technology*, 38(1), 43-74. doi:10.1016/j.seppur.2003.10.004

Herrero Latorre, C., Barciela-García, J., García-Martín, S., Peña-Creciente, R. M., & Otárola Jiménez, J. (2015). Magnetic solid-phase extraction using carbon nanotubes as sorbents: A review. *Analytica Chimica Acta*, 892, 10-26. doi:10.1016/j.aca.2015.07.046

Bibliografía

- Ibarra, I. S.**, Rodriguez, J. A., Miranda, J. M., Vega, M., & Barrado, E. (2011). Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1218(16), 2196-2202.
- Islas, G.**, Ibarra, I. S., Hernandez, P., Miranda, J. M., & Cepeda, A. (2017). Dispersive solid phase extraction for the analysis of veterinary drugs applied to food samples: a review. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2017, 1-16. doi:10.1155/2017/8215271
- Issaq, H. J.** (2000). A decade of capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 21(10), 1921-1939. doi:10.1002/1522-2683(20000601)21:10<1921::aid-elps1921>3.0.co;2-y
- Issaq, H. J.** (2002). Thirty-five years of capillary electrophoresis: advances and perspectives. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 25(8), 1153-1170. doi:10.1081/jlc-120004015
- Kao, H.-M.**, Shen, T.-Y., Wu, J.-D., & Lee, L.-P. (2008). *Control of ordered structure and morphology of cubic mesoporous*
- Kobayashi, J.**, Shirao, M., & Nakazawa, H. (1998). Simultaneous Determination of Anions and Cations in Mineral Water by Capillary Electrophoresis with a Chelating Agent. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 21(10), 1445-1456. doi:10.1080/10826079808000526
- Koirtyohann, S. R.** (1991). A history of atomic absorption spectroscopy from an academic perspective. *Analytical Chemistry*, 63(21), 1024A-1031A. doi:10.1021/ac00021a001
- Konicki, W.**, Aleksandrak, M., Moszyński, D., & Mijowska, E. (2017). Adsorption of anionic azo-dyes from aqueous solutions onto graphene oxide: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, 496, 188-200. doi:10.1016/j.jcis.2017.02.031
- Kubáň, P.**, Kubáň, P., & Kubáň, V. (1999). Simultaneous capillary electrophoretic separation of small anions and cations after complexation with ethylenediaminetetraacetic acid. *Journal of Chromatography A*, 836(1), 75-80. doi:10.1016/s0021-9673(98)00980-7
- Li, N.**, Wang, Z., Zhang, L., Nian, L., Lei, L., Yang, X., Yu, A. (2014). Liquid-phase extraction coupled with metal-organic frameworks-based dispersive solid phase extraction of herbicides in peanuts. *Talanta*, 128, 345-353. doi:10.1016/j.talanta.2014.04.084
- Lisa Reid, B.**, Kal Chana, C., John W. Bond, D., & Matthew J. Almond, P. (2010). Stubs versus swabs? a comparison of gunshot residue collection techniques. *Journal of Forensic Sciences*. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01332.x
- Llaneras, K.** (21 de Febrero de 2018). El problema de EE UU con las armas de fuego: en ningún país rico son responsables de tantas muertes. *El País*. Obtenido de https://elpais.com/politica/2018/02/20/ratio/1519148866_449958.html

Bibliografía

- López, R.** (24 de Junio de 2019). La posesión de armas, un riesgo latente. Obtenido de GACETA UNAM: <https://www.gaceta.unam.mx/la-posesion-de-armas-un-riesgo-latente/>
- Liška, I.** (2000). Fifty years of solid-phase extraction in water analysis - historical development and overview. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 3- 16. doi:10.1016/s0021-9673(99)01144-9
- Maitre, M.**, Kirkbride, K. P., Horder, M., Roux, C., & Beavis, A. (2017). Current perspectives in the interpretation of gunshot residues in forensic science: A review. *Forensic Science International*, 270, 1-11. doi:10.1016/j.forsciint.2016.09.003
- Macka, M.**, & Haddad, P. R. (1997). Determination of metal ions by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 18(12-13), 2482-2501. doi:10.1002/elps.1150181237
- Medina Valtierra, J.**, Frausto-Reyes, C., Calixto, S., Bosch, P., & Hugo Lara, V. (2007). The influence of surfactants on the roughness of titania sol-gel films. *Materials Characterization*, 58(3), 233-242. doi:10.1016/j.matchar.2006.04.021
- Mei, Q. Y.**, Wang W., Zhou H., Liu Z., Shi H., Wang P. (2016). Determination of Diphenylamine in Gunshot Residue by HPLC-MS/MS. *Journal of Forensic Sciences Med* doi:10.4103/2349-5014.162808
- Moldoveanu, S. C.**, & David, V. (2019). Derivatization methods in gc and gc/ms. gas chromatography-derivatization, sample preparation, application. doi:10.5772/intechopen.81954
- Monnig, C. A.**, & Kennedy, R. T. (1994). Capillary Electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 66(12), 280-314. doi:10.1021/ac00084a013
- Muños, J. M.** (1997). Armas. *Los Tres Últimos Inventos*, 34-39.
- Najafi, M.**, Yousefi, Y., & Rafati, A. A. (2012). Synthesis, characterization and adsorption studies of several heavy metal ions on amino-functionalized silica nano hollow sphere and silica gel. *Separation and Purification Technology*, 85, 193-205. doi:10.1016/j.seppur.2011.10.011
- Nguyen, C.**, & Do, D. . (2001). The Dubinin-Radushkevich equation and the underlying microscopic adsorption description. *Carbon*, 39(9), 1327-1336. doi:10.1016/s0008-6223(00)00265-7
- O'Mahony, A. M.**, & Wang, J. (2013). Electrochemical Detection of Gunshot Residue for Forensic Analysis: A Review. *Electroanalysis*, 25(6), 1341-1358. doi:10.1002/elan.201300054

Bibliografía

- Özçimen, D.**, & Salan, T. (2016). Removal of reactive dye remazol brilliant blue r from aqueous solutions by using anaerobically digested sewage sludge based adsorbents. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 22(2), 167-179. doi.org/10.2298/CICEQ141128029O
- Otieno, A. C.**, & Mwangela, S. M. (2008). Capillary electrophoresis-based methods for the determination of lipids-A review. *Analytica Chimica Acta*, 624(2), 163-174. doi:10.1016/j.aca.2008.06.026
- Pacáková, V.**, Coufal, P., & Štulík, K. (1999). Capillary electrophoresis of inorganic cations. *Journal of Chromatography A*, 834(1-2), 257-275. doi:10.1016/s0021-9673(98)00976-5
- Pan, Y.**, Cai, P., Farmahini-Farahani, M., Li, Y., Hou, X., & Xiao, H. (2016). Amino-functionalized alkaline clay with cationic star-shaped polymer as adsorbents for removal of Cr(VI) in aqueous solution. *Applied Surface Science*, 385, 333-340. doi:10.1016/j.apsusc.2016.05.112
- Plotka Wasylka, J.**, Szczepańska, N., de la Guardia, M., & Namieśnik, J. (2015). Miniaturized solid-phase extraction techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 73, 19-38. doi:10.1016/j.trac.2015.04.026
- Revilla V.A. L.**, M. A. (2005). *Fundamentos de Electroforesis Capilar*. México. **Roeterdink, E. M.**, Dadour, I. R., & Watling, R. J. (2004). Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). *International Journal of Legal Medicine*, 118(2), 63-70. doi:10.1007/s00414-003-0408-1
- Rojo, D.**, Rupérez, F. J., & Barba, C. (Junio de 2014). *Boletín de la Sociedad Española de Química Analítica*.
- Romolo, F.** (2004). *Organic gunshot residue from lead-free ammunition* (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté de droit et des sciences criminelles).
- Šafaří ová, M.**, & Šafařík, I. (1999). Magnetic solid-phase extraction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194(1-3), 108-112. doi:10.1016/s0304-8853(98)00566-6
- Scholz, F.** (2015). *Voltammetric techniques of analysis: the essentials*. *ChemTexts*, 1(4). doi:10.1007/s40828-015-0016-y
- Shafqat, S. S.**, Khan, A. A., Zafar, M. N., Alhaji, M. H., Sanaullah, K., Shafqat, S. R. Pang, S. C. (2019). Development of amino-functionalized silica nanoparticles for efficient and rapid removal of COD from pre-treated palm oil effluent. *Journal of Materials Research and Technology*, 8(1), 385-395. doi:10.1016/j.jmrt.2018.03.002
- Soga, T.**, & Imaizumi, M. (2001). Capillary electrophoresis method for the analysis of inorganic anions, organic acids, amino acids, nucleotides, carbohydrates and other anionic compounds. *Electrophoresis*, 22(16), 3418-3425. doi:10.1002/1522-2683(200109)22:16<3418::aid-elps3418>3.0.co;2-8

Bibliografía

- Sosa, J. M.** (2012). Análisis de residuos de disparo por cromatografía de gases con detector selectivo de masas y por cromatografía electrocinética micelar con detector ultravioleta. Tesis. Santiago de Cali.
- Skoog, D. A.,** West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (s.f.)(2006). Química Analítica. McGraw-Hill Companies.
- St. Claire, R. L.** (1996). Capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 68(12), 569-586. doi:10.1021/a1960018a
- Soylak, M.,** Elci, L., & Dogan, M. (2001). Solid phase extraction of trace metal ions with amberlite xad resins prior to atomic absorption spectrometric analysis. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 19(3), 329-344. doi:10.1081/tma-100105049
- Suleiman, J.,** Hu, B., Peng, H., & Huang, C. (2009). Separation/preconcentration of trace amounts of Cr, Cu and Pb in environmental samples by magnetic solid-phase extraction with Bismuthiol-II-immobilized magnetic nanoparticles and their determination by ICP- OES. *Talanta*, 77(5), 1579-1583. doi:10.1016/j.talanta.2008.09.049
- Suen, S.-Y.** (1997). An isotherm model describing concave-down scatchard curve for heterogeneous affinity adsorption. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 70(3), 278-286. doi:10.1002/(sici)1097-4660(199711)70:3<278::aid-jctb750>3.0.co;2-8
- Tagliaro, F.,** Bortolotti, F., Manetto, G., Pascali, V. L., & Marigo, M. (2002). Dermal nitrate: An old marker of firearm discharge revisited with capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 23(2), 278-282. doi:10.1002/1522-2683(200202)23:2<278::aid-elps278>3.0.co;2-q
- Tarifa, A.,** & Almirall, J. R. (2015). Fast detection and characterization of organic and inorganic gunshot residues on the hands of suspects by CMV-GC-MS and LIBS. *Science & Justice*, 55(3), 168-175. doi:10.1016/j.scijus.2015.02.003
- Timerbaev, A. R.,** Semenova, O. P., & Fritz, J. S. (1996). Advanced possibilities on multi-element separation and detection of metal ions by capillary zone electrophoresis using precapillary complexation I. Separation aspects. *Journal of Chromatography A*, 756(1-2), 300-306. doi:10.1016/s0021-9673(96)00649-8
- Turkel, H. W.,** & Lipman, J. (1955). Unreliability of Dermal Nitrate Test for Gunpower. *The journal of criminal law, criminology, and police science*, 46(2), 281. doi:10.2307/1139866
- Ulrich, N.** (2003). Spectroscopy | Atomic Emission and Absorption. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5441-5447. doi:10.1016/b0-12-227055-x/01119-6
- Vasconcelos, I.,** & Fernandes, C. (2017). Magnetic solid phase extraction for determination of drugs in biological matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 89, 41- 52. doi:10.1016/j.trac.2016.11.011
- Voegel, P. D.,** & Baldwin, R. P. (1997). Electrochemical detection in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 18(12-13), 2267-2278. doi:10.1002/elps.1150181217

Bibliografía

Volonte M. & Quiroga, P. (2013). Análisis farmacéutico p.130.

Weston, A., Brown, P. R., Heckenberg, A. L., Jandik, P., & Jones, W. R. (1992). Effect of electrolyte composition on the separation of inorganic metal cations by capillary ion electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 602(1-2), 249-256. doi:10.1016/0021-9673(92)80088-c

Woolever, C. A., & Dewald, H. D. (2001). Differential pulse anodic stripping voltammetry of barium and lead in gunshot residues. *Forensic Science International*, 117(3), 185-190. doi:10.1016/s0379-0738(00)00402-3

Xie, F., Lin, X., Wu, X., & Xie, Z. (2008). Solid phase extraction of lead (II), copper (II), cadmium (II) and nickel (II) using gallic acid-modified silica gel prior to determination by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 74(4), 836-843. doi:10.1016/j.talanta.2007.07.018

Yüksel, B., HOa, M., Ovide, O., Vander Pyl, C., & Trejos, T. (2019). Infrared imaging as a complementary aid in estimating muzzle-to-target shooting distance: an application on dark, patterned and bloody sample. *Turkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences*, doi: 10.5336/forensic.2019-64837

Zhou, Q., Lei, M., Liu, Y., Wu, Y., & Yuan, Y. (2017). Simultaneous determination of cadmium, lead and mercury ions at trace level by magnetic solid phase extraction with Fe@Ag@Dimercaptobenzene coupled to high performance liquid chromatography. *Talanta*, 175, 194-199. doi:10.1016/j.talanta.2017.07.043